

การเปลี่ยนแปลงของมดลูกและเต้านมในแม่วัยหลังการได้รับ
เมดรีอกซีโปรเจสเทอโรน อะซีเตต และโปรลิจีสโตน



นายกฤษณรงค์ วงศ์บ้านดู่

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

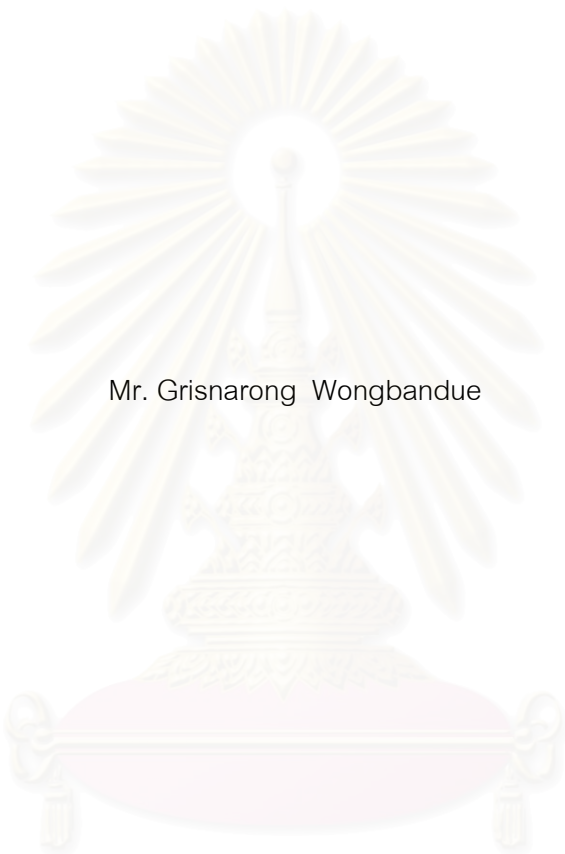
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ และวิทยาการสืบพันธุ์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHANGES OF UTERINE AND MAMMARY TISSUE AFTER ADMINISTRATION OF
MEDROXYPROESTERONE ACETATE AND PROLIGESTONE IN DOMESTIC CAT



Mr. Grisnarong Wongbandue

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Theriogenology

Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction

Faculty of Veterinary Science


Chulalongkorn University

Academic Year 2007

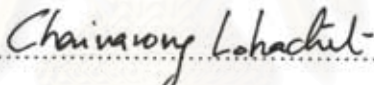
Copyright of Chulalongkorn University

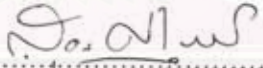
หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเปลี่ยนแปลงของมดลูกและเต้านมในแม่ว้าน ภายหลังจากได้รับ เมทริกซ์โปรเจสเตอโรน อะซีเตต และโปรลิจเอสโตน
โดย	นาย กฤษณรงค์ วงศ์บ้านคู่
สาขาวิชา	วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. สุตสรวิ ศิริไวยพงษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อนุเทพ รังสีพิพัฒน์


คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาดำเนินการตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต


..... คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรณพ คุณาวงค์กฤต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. ชัยณรงค์ โฉนชิต)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. สุตสรวิ ศิริไวยพงษ์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อนุเทพ รังสีพิพัฒน์)


..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. ศยามณ ศรีสุวัฒนาสกุล)

กฤษณรงค์ วงศ์บ้านคู่: การเปลี่ยนแปลงของมดลูกและเต้านมในแมวบ้านภายหลังการได้รับ
เมดร็อกซีโปรเจสเทอโรน อะซีเตต และโปรลิจีสโตน. (CHANGES OF UTERINE AND
MAMMARY TISSUE AFTER ADMINISTRATION OF MEDROXYPROGESTERONE
ACETATE AND PROLIGESTONE IN DOMESTIC CAT) อ. ที่ปรึกษา : รศ.น.สพ.ดร.
สุดสรร ศิริไวยพงษ์, อ. ที่ปรึกษาร่วม รศ.น.สพ.ดร.อนุเทพ รังสีพิพัฒน์, 56 หน้า.

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของมดลูกและเต้านมในแมวบ้านที่ได้รับ
โปรเจสตินชนิดโปรลิจีสโตน(PROL) เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับเมดร็อกซีโปรเจสเทอโรน อะซีเตต
(MPA) และกลุ่มควบคุม แบ่งแมวบ้านเพศเมียเป็น 3 กลุ่มๆละ 6 ตัว จัด PROL, MPA และน้ำเกลือ
เพียงครั้งเดียวให้แมวตามกลุ่มที่กำหนด หลังจากนั้น 15 วัน เก็บตัวอย่างมดลูกและเนื้อเยื่อเต้านมเพื่อ
ตรวจลักษณะทางมหกายวิภาค จุลกายวิภาค ดัชนีออกซายา PCNA และองค์ประกอบของเซลล์ใน
ระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ผลการศึกษาพบว่ามดลูกของแมวในกลุ่มที่ได้รับ PROL และ MPA มีขนาด
ใหญ่ขึ้น มีน้ำหนักรวม น้ำหนักมวลสัมพันธ์ และเส้นผ่านศูนย์กลางปีกมดลูกมากกว่ากลุ่มควบคุม
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ได้รับโปรเจสติน ไม่พบการขยาย
ขนาดของเต้านมในทางมหกายวิภาคในทุกกลุ่มทดลอง ไม่พบความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลง
ลักษณะทางจุลกายวิภาคและระดับการออกซายาของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมระหว่างแมวที่ได้รับ
PROL และ MPA ซึ่งส่วนใหญ่มีการงอกซายาในแบบ endometrial hyperplasia และmammary
fibroepithelial hyperplasia ตามลำดับ ดัชนี PCNA ไม่สามารถบ่งชี้ความแตกต่างของระดับการออก
ซายาที่ชัดเจนระหว่างเนื้อเยื่อเต้านมและมดลูกของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง การศึกษาจาก
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านพบการเพิ่มขึ้นของ microvilli และ secretory granules ใน
เซลล์เยื่อบุตอมของมดลูกแมวที่ได้รับโปรเจสตินชนิด PROL โดยสรุปการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า
PROLสามารถกระตุ้นให้เกิดการเจริญงอกซายาของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในแมวบ้านได้คล้ายกับ
MPA ทั้งในระดับมหกายวิภาคและจุลกายวิภาค ซึ่งการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านเป็น
เทคนิคที่ช่วยยืนยันและแสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงที่พบในระดับเซลล์ได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

ภาควิชาสัตวศาสตร์ ฐานเวทวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์

ปีการศึกษา 2550

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4775552231 : MAJOR THERIOGENOLOGY

KEY WORD: PROLIGESTONE / MEDROXYPROGESTERONE ACETATE / DOMESTIC CAT

GRISNARONG WONGBANDUE : CHANGES OF UTERINE AND MAMMARY TISSUE AFTER ADMINISTRATION OF MEDROXYPROGESTERONE ACETATE AND PROLIGESTONE IN DOMESTIC CAT. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SUDSON SIRIVAIIDYAPONG, PhD. THESIS COADVISOR : ASSOC. PROF. ANUDEP RUNGSIPIPAT, PhD. 56 pp.

The aims of this study were to investigate the alteration of uterus and mammary gland in domestic cat administrated proligestone(PROL) or medroxyprogesterone acetate(MPA). Eighteen female cats were divided into 3 groups. Group 1, 2, and 3 were administrated PROL, MPA or normal saline, respectively. Mammary and uterine tissue were biopsied and examined, at 15 days later. Gross and histological lesion, transmission electron microscopic (TEM) examination, and PCNA index were evaluated. The results revealed that uterine size, weight, relative weight, and outer diameter were significantly increased in PROL and MPA treated cats, but no statistical difference between these groups. No evidence of mammary gland enlargement was observed in control group. Histological finding demonstrated the endometrial hyperplasia and mammary fibroepithelial hyperplasia in both progestin treated groups. Histopathological scoring of mammary gland and uterus indicated no statistical difference between cats treated with PROL and MPA. PCNA index provided overlapping results of mammary gland and uterus proliferation among placebo, PROL, and MPA treated specimens. Ultrastructure of uterine gland showed the increasing number of microvilli and secretory granules in PROL treated cats. In conclusion, clinical single dose of PROL administrated capable to induce uterine and mammary gland proliferation in domestic cat resemble to MPA.

Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction

Field of study Theriogenology

Academic year 2007

Student's signature.....

Advisor's signature.....

Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สพ.ญ. สุกัญญา มณีอินทร์ และน.สพ. ศิริชัย เตชะรุ่งชัยกุล สำหรับความช่วยเหลือด้านเทคนิคการผ่าตัดเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในหน่วยสูติกรรม โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างเป็นอย่างดี คุณสุประดิษฐ์ หวังในธรรม และเจ้าหน้าที่หน่วยพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับความช่วยเหลือด้านเทคนิคทางเนื้อเยื่อวิทยา ขอขอบคุณ รศ.สพ.ญ.ดร.เกวลี ฉัตรตรงค์ สำหรับการให้คำปรึกษา รวมทั้งเชื้อเพื่ออุปกรณ์เก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อช่องคลอดในแมว รศ.น.สพ.ดร. เผด็จ ธรรมวัชร สำหรับข้อเสนอแนะในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ผศ.น.สพ.ดร.วุฒิชัย กลมเกลียว สำหรับข้อเสนอแนะในการแปลผลภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ขอขอบคุณบริษัทอินเตอร์เวท ประเทศไทย จำกัด ที่ได้ให้การสนับสนุนเวชภัณฑ์บางส่วน ตลอดจนขอขอบคุณทุกท่านที่มีได้กล่าวถึงซึ่งมีส่วนช่วยให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้โดยสมบูรณ์



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ

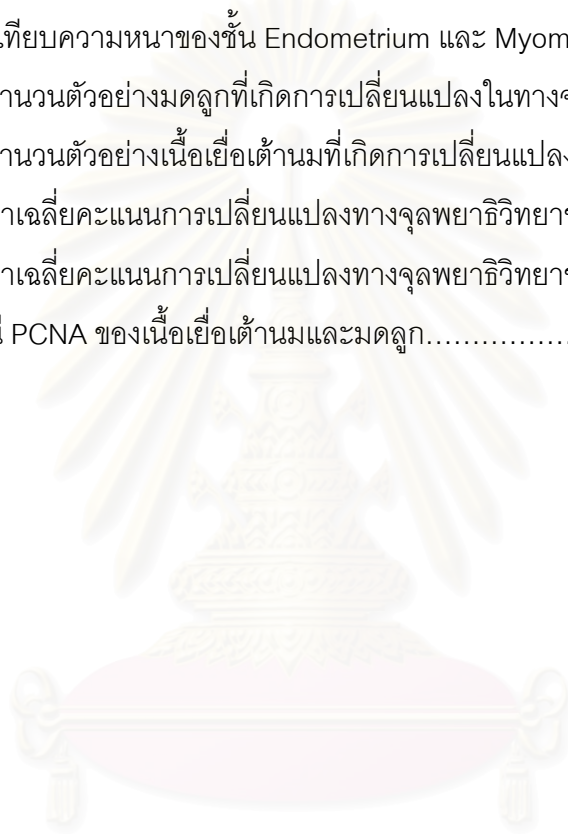
บทที่

1. บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย.....	4
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
การใช้โปรเจสตินในทางสรีรวิทยา.....	5
กลไกการออกฤทธิ์ของโปรเจสติน.....	6
โปรเจสตินที่ใช้ในการศึกษา.....	8
Proligestone(PROL).....	8
Medroxyprogesterone acetate(MPA).....	10
ผลข้างเคียงของการใช้โปรเจสตินที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ในแมว.....	11
วงจรการเป็นสัดในแมว.....	12
3. วิธีดำเนินงานวิจัย.....	14
ประชากร.....	14
การแบ่งกลุ่มทดลอง.....	14
วิธีดำเนินงานวิจัย.....	14
1. ขั้นตอนเตรียมดำเนินงานวิจัย.....	14
การตรวจสอบประวัติ.....	14
การตรวจร่างกาย.....	14
การตรวจวงจรการเป็นสัด.....	15

บทที่	หน้า
การตรวจลักษณะเซลล์เยื่อช่องคลอด.....	15
การตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือด.....	16
2. ขั้นตอนดำเนินงานวิจัย.....	16
การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านม.....	17
การตรวจทางมหากายวิภาค.....	17
การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา.....	18
การตรวจสอบโดยวัดดัชนีออกซาย.....	21
การศึกษาทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน	21
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	22
4. ผลการศึกษา.....	24
ลักษณะทางมหากายวิภาคของมดลูก.....	24
ลักษณะทางจุลกายวิภาคของมดลูกและเต้านม.....	26
การวัดดัชนีออกซายของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านม.....	29
การศึกษาระดับกลูต้าทอโรนชนิดส่องผ่านของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านม.....	30
5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล.....	35
ลักษณะทางมหากายวิภาคของมดลูก และเต้านม.....	35
ลักษณะทางจุลกายวิภาคของมดลูกและเต้านม.....	38
การวัดค่าดัชนีออกซายของเนื้อเยื่อมดลูก และเต้านม.....	43
ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมดลูก และเต้านมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอน ชนิดส่องผ่าน.....	45
รายการอ้างอิง.....	48
ภาคผนวก.....	54
ภาคผนวก ก.....	55
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	56

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลอายุ น้ำหนัก ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และรูปร่างปีกมดลูก.....	24
ตารางที่ 2 เปรียบเทียบน้ำหนักมดลูก น้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ และความยาวของมดลูก.....	25
ตารางที่ 3 เปรียบเทียบเส้นผ่านศูนย์กลางของโพรงมดลูก และเส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูก.....	26
ตารางที่ 4 เปรียบเทียบความหนาของชั้น Endometrium และ Myometrium.....	26
ตารางที่ 5 แสดงจำนวนตัวอย่างมดลูกที่เกิดการเปลี่ยนแปลงในทางจุลพยาธิวิทยา.....	27
ตารางที่ 6 แสดงจำนวนตัวอย่างเนื้อเยื่อเต้านมที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา.....	28
ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ยคะแนนการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อมดลูก.....	28
ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยคะแนนการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านม.....	27
ตารางที่ 9 ค่าดัชนี PCNA ของเนื้อเยื่อเต้านมและมดลูก.....	30



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
รูปที่1 ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมดลูกในแมวบ้านกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับ โปรเจสตินชนิด PROL และกลุ่มที่ได้รับโปรเจสตินชนิด MPA.....	31
รูปที่2 ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านมในแมวบ้านกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับ โปรเจสตินชนิด PROL และกลุ่มที่ได้รับโปรเจสตินชนิด MPA.....	32
รูปที่3 เซลล์เยื่อบุต่อมในชั้น endometrium ของมดลูก และเซลล์เนื้อเยื่อเต้านมของแมวบ้าน ในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสตินชนิด PROL และกลุ่มที่ได้รับโปรเจสตินชนิด MPA ซึ่งให้ผลบวก ต่อ PCNA.....	33
รูปที่4 ภาพถ่ายกล้องอิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านแสดงลักษณะองค์ประกอบของเซลล์เยื่อบุต่อม ในชั้น endometrium ในแมวบ้านกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับโปรเจสตินชนิด PROL	34

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันได้มีการศึกษาค้นคว้าเพื่อพัฒนาวิธีควบคุมวงจรการเป็นสัตว์เลี้ยวเพศเมียโดยเฉพาะสุนัขและแมวอย่างกว้างขวาง ส่งผลให้เกิดทางเลือกที่หลากหลายมากขึ้นในการควบคุมวงจรการเป็นสัตว์เลี้ยวเพศเมียและควบคุมกำเนิดสำหรับสัตว์เลี้ยวดังกล่าว ทั้งนี้อาจมีสาเหตุที่สำคัญเนื่องจากที่ผ่านมามีประเทศไทยและหลายประเทศทั่วโลกต่างประสบกับปัญหาของสุนัขและแมวจรจัด ซึ่งสร้างผลกระทบต่อสังคมในด้านสาธารณสุขและสิ่งแวดล้อม ยกตัวอย่างเช่น ปัญหาโรคติดต่อจากสัตว์สู่คน ปัญหาโรคระบาดในสัตว์เลี้ยวอันมีสัตว์จรจัดเป็นพาหะ และปัญหาการลดจำนวนลงของสัตว์พื้นเมืองบางชนิดซึ่งถูกล่าโดยสัตว์จรจัด เป็นต้น (Kutzler and Wood, 2006) ซึ่งเมื่อพิจารณาเฉพาะในส่วนของสัตว์เลี้ยวประเภทแมวนั้นพบว่าแนวทางหรือวิธีการควบคุมจำนวนประชากรอย่างเหมาะสมเป็นประเด็นที่มีความน่าสนใจเนื่องจากมีข้อมูลที่ยืนยันว่าแมวสามารถเพิ่มจำนวนประชากรได้รวดเร็วมากกว่าสุนัข 3-4 เท่า (Burke, 1977) ประเมินว่าหากแมวเพศเมียจำนวน 2 ตัว ให้กำเนิดลูกแมวรวมกัน 8 ตัวต่อปี ในช่วงระยะเวลาเพียง 7 ปี จะมีประชากรแมวเพิ่มมากขึ้นเป็นจำนวนถึง 174,760 ตัว (Olson et al., 1993) ดังนั้นเพื่อหาหนทางป้องกันและหลีกเลี่ยงปัญหาที่อาจเกิดขึ้นดังกล่าว การเลือกใช้วิธีการคุมกำเนิดที่มีประสิทธิภาพและสามารถดำเนินการได้สะดวกในทางปฏิบัติจึงถือเป็นสิ่งที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง

นอกเหนือจากประเด็นในด้านการควบคุมประชากรแล้วพบว่าปัจจุบันรูปแบบการดูแลและกิจกรรมของสัตว์เลี้ยวก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ ซึ่งมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจของเจ้าของสัตว์ในการให้ดำเนินการควบคุมวงจรการเป็นสัตว์เลี้ยวของตนเองด้วยเหตุผลอันแตกต่างกันออกไปหลายประการ เช่น เพื่อความสะดวกในการจัดการดูแลสัตว์ ความต้องการหลีกเลี่ยงพฤติกรรมและอาการไม่พึงประสงค์ของสัตว์เลี้ยวที่เกิดขึ้นในระยะเป็นสัตว์ รวมถึงเพื่อหลีกเลี่ยงช่วงระยะการเป็นสัตว์ในระหว่างที่มีการประกวดหรือแข่งขัน เป็นต้น (Van Os, 1982) สำหรับการควบคุมวงจรการเป็นสัตว์และการคุมกำเนิดในสุนัขและแมวนั้นนอกเหนือจากวิธีการที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายอันได้แก่ การทำหมันโดยการผ่าตัดนำรังไข่และมดลูกออก (ovariohysterectomy; OVH) และการใช้ฮอร์โมนของฮอร์โมนโปรเจสโตเจนแล้ว ปัจจุบันพบว่ายังได้มีความพยายามนำเอาความรู้และความก้าวหน้าในศาสตร์แขนงต่างๆมาประยุกต์ใช้ร่วมด้วย ดังจะเห็นได้จากการค้นคว้าเพื่อทำการผลิตวัคซีนจาก porcine zona pellucida ซึ่งมีเป้าหมายในการขัดขวางกระบวนการปฏิสนธิของไข่และสเปิร์มที่เกิดขึ้นในทางเดินอวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์

เพศเมีย (Munson, 2006) หรือการนำฮอร์โมนหรือสารสังเคราะห์บางชนิด เช่น androgen, GnRH agonists หรือ GnRH antagonists มาใช้ควบคุมวงจรการเป็นสัด (Kutzler and Wood, 2006) อย่างไรก็ตามแม้ว่าวิธีการเหล่านี้จะเป็นทางเลือกที่น่าสนใจและเป็นประโยชน์สำหรับสัตวแพทย์เจ้าของสัตว์ ตลอดจนจนถึงตัวของสัตว์เลี้ยงเอง ซึ่งอาจมีข้อจำกัดบางประการในการใช้วิธีการควบคุมวงจรการเป็นสัด และการคุมกำเนิด แต่สำหรับการดำเนินการในประเทศไทยปัจจุบันเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าในทางปฏิบัติการควบคุมวงจรการเป็นสัด และการคุมกำเนิดในแมวบ้านเพศเมียโดยการทำหมันด้วยวิธี OVH และการใช้ฮอร์โมนของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนยังคงเป็นแนวทางที่ได้รับการยอมรับและมีความนิยมมากกว่าวิธีอื่น

การทำหมันโดยผ่าตัดนำรังไข่และมดลูกออก (ovariohysterectomy; OVH) จัดเป็นวิธีการคุมกำเนิดที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย ซึ่งพบว่าก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อตัวสัตว์ค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติวิธีการดังกล่าวยังคงปรากฏข้อด้อยอยู่บางประการ ได้แก่ ค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับการใช้ยาคุมกำเนิดชนิดฉีด ความเสี่ยงของชีวิตสัตว์ในการวางยาสลบ ภาวะแทรกซ้อนของแผลที่อาจเกิดขึ้นหลังการผ่าตัด และสำคัญที่สุดคือการทำที่สัตว์จะต้องสูญเสียความสามารถทางสืบพันธุ์อย่างถาวร (Concannon and Mayers-Wallen, 1991) นอกจากนี้ในด้านความรู้สึกพบว่ามีเจ้าของสัตว์หลายรายไม่ต้องการให้สัตว์เลี้ยงของตนได้รับการคุมกำเนิดโดยวิธีการผ่าตัดทำหมันเนื่องจากเหตุผลหลายประการ อาทิเช่น รู้สึกสงสารสัตว์ ความกังวลต่อปัจจัยในด้านค่าใช้จ่ายที่สูง ทศนคติที่ว่าการทำหมันไม่มีความจำเป็นต่อสัตว์ และกลัวต่อการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรมที่อาจเกิดขึ้นในสัตว์เลี้ยงของตนภายหลังจากการทำหมัน (Kutzler and Wood, 2006) จากสาเหตุดังกล่าวเหล่านี้จึงทำให้มีเจ้าของสัตว์จำนวนไม่น้อยต้องการทางเลือกสำหรับสัตว์เลี้ยงของตนเพื่อให้ได้รับการคุมกำเนิดโดยหลีกเลี่ยงวิธีการผ่าตัด

ในส่วนของการใช้โปรเจสติน (progestins) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ หรือสารประกอบของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progestational compounds) พบว่ามีข้อมูลการใช้ในทางสัตวแพทย์มาเป็นระยะเวลายาวนาน โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อควบคุมวงจรการเป็นสัด และคุมกำเนิดชั่วคราวทั้งในสุนัขและแมวเพศเมีย ซึ่งถือเป็นทางเลือกหนึ่งที่สำคัญนอกเหนือจากวิธีการผ่าตัดทำหมัน โดยชนิดของโปรเจสตินที่พบการใช้ในการปฏิบัติงานทางคลินิกสัตวแพทย์ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ได้แก่ medroxyprogesterone acetate (MPA), melengestral acetate (MGA), megestrol acetate (MA), proligestone (PROL), delmadinone acetate และ clormadinone acetate (Romagnoli and Concannon, 2003) สำหรับในประเทศไทยพบว่าโปรเจสตินชนิดที่นิยมนำมาใช้เพื่อการควบคุมวงจรการเป็นสัดและคุมกำเนิดในแมวบ้านอย่างแพร่หลายในปัจจุบันมีอยู่สองชนิด ได้แก่ medroxyprogesterone acetate และ proligestone

นอกเหนือจากประโยชน์ที่ได้รับจากการใช้โปรเจสทินในด้านควบคุมกำเนิด และควบคุมวงจรการเป็นสัดแล้ว ที่ผ่านมามีรายงานจำนวนไม่น้อยกล่าวถึงผลข้างเคียงของการใช้โปรเจสทินที่เกิดขึ้นกับแมวบ้ำนด้วยเช่นกัน ซึ่งพบว่าการใช้โปรเจสทินอาจเหนี่ยวนำให้เกิดผลข้างเคียงต่ออวัยวะในระบบสืบพันธุ์ของแมวได้ เช่น การเกิดมดลูกอักเสบ (Thornton and Kear, 1967) การงอกขยายของเนื้อเยื่อเต้านมและมะเร็งเต้านม (Amorim et al., 2006) และการเกิดภาวะท้องเทียม (Gruffydd-Jones, 2004) เป็นต้น นอกจากนี้เมื่อศึกษาตัวอย่างมดลูกของแมวที่มีประวัติได้รับโปรเจสทินชนิด MPA พบว่าโปรเจสทินชนิดดังกล่าวมีความสัมพันธ์ต่อการงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกในลักษณะ cystic endometrial hyperplasia รวมทั้งการเจริญงอกขยายของ luminal และ glandular epithelium (Chatdarong et al., 2005) ขณะที่การศึกษาของ Loretta และคณะ (2005) รายงานว่าพบการงอกขยายของเนื้อเยื่อเต้านมในแมวบ้ำนในลักษณะ fibroepithelial hyperplasia ตั้งแต่ระยะ 3 วัน จนกระทั่งถึง 3 เดือนหลังจากการได้รับโปรเจสทินชนิด MPA เพียงครั้งเดียว จากข้อมูลที่พบข้างต้นบ่งชี้ให้เห็นว่าการใช้โปรเจสทินชนิด MPA อาจเป็นปัจจัยประการหนึ่งที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติของมดลูกและการงอกขยายของเต้านมในแมวได้ ขณะที่ในส่วนของ PROL ซึ่งเป็นโปรเจสทินที่ได้รับการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้สำหรับควบคุมวงจรการเป็นสัดในสุนัขและแมว (Selman et al., 1996) ปัจจุบันเริ่มพบว่ามีกานำมาใช้ในทางคลินิกอย่างแพร่หลายมากขึ้นในประเทศไทย โดยรายงานการศึกษาในสุนัขพบว่าโปรเจสทินชนิด PROL ก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่ออวัยวะในระบบสืบพันธุ์ที่น้อยกว่าโปรเจสทินชนิด MPA (Evan and Sutton, 1989; Selman et al., 1996) อย่างไรก็ตามสำหรับการศึกษารายละเอียดและข้อมูลของการใช้โปรเจสทินชนิดนี้ในแมวบ้ำน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเปลี่ยนแปลงและผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นต่อระบบสืบพันธุ์ปัจจุบันยังคงพบว่ามีอยู่น้อยมาก

จากมูลเหตุเบื้องต้นดังกล่าวในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อมุ่งเน้นสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงของมดลูกและเนื้อเยื่อเต้านมของแมวบ้ำนในช่วงระยะเวลา 15 วัน ภายหลังจากได้รับโปรเจสทินชนิด PROL โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มของแมวบ้ำนที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA และกลุ่มควบคุมซึ่งไม่เคยได้รับโปรเจสทินชนิดใดมาก่อน ข้อมูลจากการศึกษาที่ได้ผู้วิจัยคาดว่าจะเป็ประโยชน์และสนับสนุนความรู้ความเข้าใจให้แก่สัตวแพทย์ผู้ปฏิบัติงานทางคลินิกในการพิจารณาใช้โปรเจสทินเพื่อควบคุมวงจรการเป็นสัด และคุมกำเนิดในแมวบ้ำน โดยตระหนักถึงความปลอดภัยและผลที่จะเกิดขึ้นต่อตัวสัตว์ รวมทั้งเป็นพื้นฐานในการกำหนดแนวทางการควบคุมวงจรการเป็นสัดและการคุมกำเนิดในแมวบ้ำนที่เหมาะสมต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมดลูก และเนื้อเยื่อเต้านมในแม่วบ้านทั้งในด้านมหากายวิภาค จุลกายวิภาค และในระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ในช่วงระยะเวลา 15 วัน ภายหลังจากการใช้โปรเจสตินชนิด PROL และ MPA

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. แสดงข้อมูลที่สำคัญและมีความชัดเจนในด้านของการเปลี่ยนแปลงของระบบสืบพันธุ์ในแม่วบ้านภายหลังจากการใช้โปรเจสตินชนิด PROL และ MPA ซึ่งเป็นประโยชน์แก่สัตวแพทย์ผู้ปฏิบัติงานทางคลินิก
2. ส่งเสริมความเข้าใจที่ถูกต้องให้แก่ผู้ปฏิบัติงานด้านคลินิกในการเลือกใช้โปรเจสตินเพื่อควบคุมวงจรการเป็นสัด และการคุมกำเนิดอย่างชั่วคราวที่เหมาะสม เพื่อลดอุบัติการณ์ความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ในแม่วบ้าน
3. สัตวแพทย์สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เพื่อให้คำแนะนำที่เหมาะสมแก่เจ้าของสัตว์ถึงข้อดีและข้อเสียของการคุมกำเนิดโดยการใช้โปรเจสตินชนิด PROL และ MPA
4. ใช้ข้อมูลจากศึกษาเพื่อเป็นพื้นฐานในการสนับสนุนการดำเนินงานวางแผนการควบคุมประชากรแมวจรจัดในประเทศไทย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การใช้โปรเจสตินในทางสัตวแพทย์

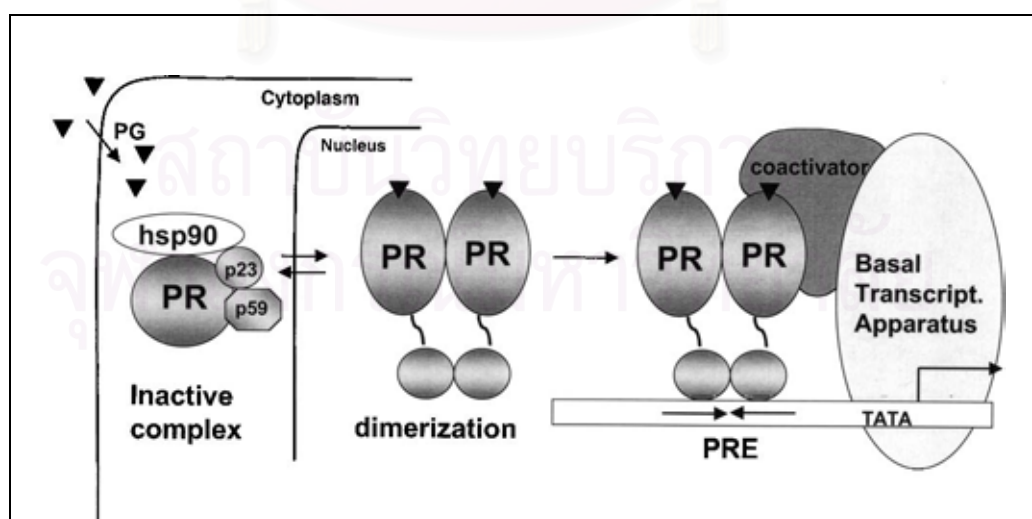
โปรเจสติน (progestin) หรือโปรเจสโตเจน (progestogen) เป็นคำที่ใช้สื่อความหมายถึง สารประกอบ หรืออนุพันธ์ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน รวมถึงสารสเตียรอยด์ที่สามารถออกฤทธิ์ได้ คล้ายกับฮอร์โมนดังกล่าว แรกเริ่มนั้นโปรเจสตินถูกสังเคราะห์ขึ้นในช่วงต้นศตวรรษที่ 20 ภายหลังจากที่มีการศึกษาและค้นพบว่าสารสังเคราะห์ชนิดนี้มีบทบาทสำคัญในการช่วยดำรงการตั้งครรภ์ ให้คงอยู่จนครบกำหนดคลอด อีกทั้งมีฤทธิ์ในการกระตุ้นสิ่งคัดหลั่งจาก endometrial gland ของ มดลูก นอกจากนี้เมื่อทดลองนำโปรเจสตินฉีดเข้ากล้ามเนื้อให้แก่กระต่ายพบว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้ง ไม่ให้เกิดการตกไข่ (Romagneli and Concannon, 2003) จากเหตุดังกล่าวจึงเริ่มมีความสนใจ ศึกษาและสังเคราะห์โปรเจสตินมากขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เบื้องต้นในการใช้สำหรับคุมกำเนิดใน มนุษย์ ซึ่งโปรเจสตินที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในระยะแรกนี้ ได้แก่ medroxyprogesterone acetate (MPA), melengestral acetate (MGA) และ megestrol acetate (MA) จากนั้นในเวลาต่อมาจึง ได้เริ่มมีการนำโปรเจสตินบางชนิดเช่น proligestone (PROL), megestrol acetate, delmadinone acetate และ clormadinone acetate ซึ่งเดิมถูกผลิตขึ้นเพื่อใช้ในการคุมกำเนิดสำหรับมนุษย์ นำมาประยุกต์ใช้เพื่อควบคุมวงจรการเป็นสัด และการคุมกำเนิดในสุนัขและแมว (Romagneli and Concannon, 2003)

ในทางสัตวแพทย์พบว่าโปรเจสตินที่นิยมนำมาใช้ทางคลินิกเพื่อคุมกำเนิด และควบคุม วงจรการเป็นสัดทั้งในสุนัขและแมวเพศเมีย ได้แก่ MPA และ PROL (Gruffydd-Jones, 2004) โดยพบว่าในช่วงกว่าสองทศวรรษที่ผ่านมาโปรเจสตินชนิด MPA ได้ถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง จนกระทั่งปัจจุบันทั้งประเทศไทยและหลายประเทศในทวีปยุโรปยังคงมีการใช้โปรเจสตินชนิดนี้ ในทางคลินิกสัตวแพทย์อย่างต่อเนื่อง แตกต่างจากในส่วนของประเทศสหรัฐอเมริกาที่ได้มีคำสั่ง ระวังการใช้โปรเจสตินชนิด MPA ในสัตว์เลี้ยง เมื่อพบว่ามีรายงานอุบัติการณ์ความผิดปกติของ มดลูกในสุนัขที่เพิ่มขึ้นภายหลังจากการใช้โปรเจสตินชนิดดังกล่าว (Concannon and Mayers-Wallen, 1991) ในส่วนของโปรเจสตินชนิด PROL นั้นถูกสังเคราะห์ขึ้นภายหลังจาก โปรเจสตินชนิด MPA และนำมาประยุกต์ใช้ในทางสัตวแพทย์โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมวงจร การเป็นสัดอย่างชั่วคราวในสุนัขและแมวเพศเมีย ซึ่งมีรายงานและการศึกษาจำนวนไม่น้อยที่ กล่าวถึงคุณสมบัติที่ดีของโปรเจสตินชนิดนี้ว่าก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อระบบสืบพันธุ์ของสุนัขที่ น้อยกว่าโปรเจสตินชนิดอื่น (Selman et. al, 1995) และแม้ปัจจุบันจะมีการยอมรับกันอย่าง กว้างขวางว่าการใช้โปรเจสตินชนิด PROL ในสุนัขมีแนวโน้มที่จะทำให้เกิดปัญหาต่ออวัยวะใน

ระบบสืบพันธุ์ได้น้อย รวมทั้งมีข้อจำกัดด้านการใช้ในช่วงของวงรอบการเป็นสัดน้อยกว่าโปรเจสตินชนิด MPA แต่สำหรับการศึกษาและข้อมูลของการใช้โปรเจสตินชนิดนี้ในแมวบ้านปัจจุบันพบว่ายังมีอยู่ไม่มากนัก

กลไกการออกฤทธิ์ของโปรเจสติน

การออกฤทธิ์ของโปรเจสตินต่ออวัยวะในระบบสืบพันธุ์นั้นเป็นกระบวนการที่ต้องอาศัยการทำงานร่วมกับตัวรับจำเพาะของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone receptor; PR) ภายในเซลล์เป้าหมาย (Spitz and Robins, 1998) ซึ่งปัจจุบันพบว่า PR มีอยู่ 2 รูปแบบ (isoform) ได้แก่ PR-A และ PR-B โดยมีความแตกต่างกันทั้งในด้านจำนวนของ amino acids และบทบาทที่ควบคุมการทำงานของเซลล์ (Leonhardt and Edwards, 2002) กลไกการทำงานของโปรเจสตินจะเริ่มต้นจากการเคลื่อนตัวผ่านผนังเซลล์เป้าหมายโดยวิธีการแพร่ (diffuse) เพื่อเข้าจับกับ PR ซึ่งสามารถพบได้ทั้งในไซโตพลาสซึมและนิวเคลียสของเซลล์ (Verhage et al, 1983) ภายหลังจากเข้าจับของโปรเจสตินกับ PR เกิดเป็น Progesterone-receptor complex จะมีการแยกตัวออกไปของ heat shock proteins พร้อมกับมารวมตัวกันของ PR อยู่ในรูป dimer ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูป (transformation) ของ PR ไปอยู่ในสถานะที่พร้อมต่อการเคลื่อนเข้าจับกับตำแหน่ง promoter region ของ Progesterone-response elements ในจีโนม (genome) การเข้าจับของ Progesterone-receptor complex ในตำแหน่งดังกล่าวจะเหนี่ยวนำให้เกิดการกระตุ้นหรือยับยั้งกระบวนการ Transcription ของจีนที่ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ซึ่งจะทำให้เกิดการเพิ่มหรือลดการสังเคราะห์ผลผลิตของเซลล์ที่ส่งผลต่อการทำงานและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ภายในเนื้อเยื่อเป้าหมาย (Reimer, 2003)



ภาพแสดงขั้นตอนกลไกการทำงานของโปรเจสตินและตัวรับจำเพาะในเซลล์เป้าหมาย (ที่มา: Leonhardt and Edward, 2002)

สำหรับบทบาทโดยหลักของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและโปรเจสตินในทางสรีรกรรมนั้น พบว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการช่วยดำรงระยะการตั้งครรภ์ และทำงานประสานกับฮอร์โมนเอสโตรเจนในการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของมดลูก ทั้งนี้อาจจำแนกการออกฤทธิ์ของโปรเจสตินได้ ดังนี้ (Romagnoli and Concannon, 2003)

1. Progestational action
2. Anti-estrogenic action
3. Anti-androgenic action
4. Anti-gonadotrophic action
5. Contraceptive actions

การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน หรือโปรเจสตินในด้านของ progestational action เป็นกระบวนการที่ดำเนินไปเพื่อสนับสนุนการตั้งครรภ์และการคงอายุครรภ์ โดยในส่วนของมดลูกพบว่าการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนจะกระตุ้นการพัฒนาของ endometrial gland และการหลั่งของเหลวจากต่อมดังกล่าว รวมถึงเหนี่ยวนำการปิดของปากมดลูกในช่วงระหว่างการตั้งครรภ์ และยับยั้งการบีบตัวของมดลูก โดยลดการตอบสนองต่อตัวรับของฮอร์โมน oxytocin ในกล้ามเนื้อมดลูก (myometrium) นอกจากนี้พบว่าโปรเจสตินมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อเต้านมในส่วน lobulo-alveolar tissue ด้วย ขณะที่การออกฤทธิ์ในด้านของ anti-estrogenic action นั้นพบว่าในช่วงที่ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน หรือโปรเจสตินในร่างกายเพิ่มสูงขึ้นพบจะส่งผลให้เกิดการลดการสังเคราะห์โปรตีนตัวรับของฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งทำให้การออกฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลง

ส่วนการออกฤทธิ์ในด้าน anti-androgenic action พบว่าโปรเจสตินที่ได้รับเข้าสู่ร่างกายจะมีผลรบกวนการทำงานของตัวรับของฮอร์โมนแอนโดรเจน รวมถึงสเตียรอยด์ฮอร์โมนชนิดอื่นๆ ทำให้เกิดการระงับ หรือลดผลที่เกิดขึ้นจากการทำงานของ androgenic action ขณะที่ในการศึกษาถึงฤทธิ์ทางด้าน anti-gonadotrophic action พบว่า โปรเจสตินจะลดการหลั่งของ FSH และ LH จากต่อมใต้สมอง รวมทั้งออกฤทธิ์ควบคุมความถี่ (pulsatile) ของการหลั่งฮอร์โมนโกนาโดโทรปินไม่ให้เพิ่มขึ้นตามวงจรการเป็นสัดปกติ จึงส่งผลให้ไม่เกิดการเจริญของ follicles และยับยั้งการตกไข่

สำหรับ contraceptive action นั้นพบว่าเป็นกระบวนการที่อาศัยกลไกหลายประการ ประกอบกันโดยเฉพาะการออกฤทธิ์ด้าน anti-gonadotrophic action และ anti-estrogenic action ซึ่งถือเป็นสิ่งสำคัญที่มีบทบาทต่อการยับยั้งการพัฒนาของฟอลลิเคิลและทำให้ไม่เกิดการตกไข่ รวมไปถึงอาการและพฤติกรรมที่เกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาการเป็นสัด (Van Os, 1982) อย่างไรก็ตามสัตว์แต่ละชนิดรวมถึงมนุษย์อาจมีการตอบสนองต่อการได้รับโปรเจสตินชนิด

เดียวกันที่ต่างกันออกไป ยกตัวอย่างเช่น ในกรณีของการได้รับโปรเจสตินในสุนัขเปรียบเทียบกับมนุษย์ โดยในมนุษย์นั้นพบว่าโปรเจสตินชนิด Northisterone หรือ Levonorgestrel จะออกฤทธิ์ในด้าน progestational action เพียงอย่างเดียว ขณะที่การทดลองใช้โปรเจสตินทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวในสุนัขกลับพบว่าสามารถออกฤทธิ์ในด้านของ estrogenic action ได้ด้วย นอกจากนี้มีข้อมูลที่น่าสนใจซึ่งพบว่าสัตว์หลายชนิดมักมีกระบวนการพัฒนาของเนื้อเยื่อเต้านมที่จำเป็นจะต้องอาศัยอิทธิพลทั้งจากฮอร์โมนเอสโตรเจนและฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกัน แต่การทดลองในสุนัขที่ถูกตัดรังไข่ออกและทำการให้โปรเจสตินเพียงอย่างเดียว กลับพบว่าสุนัขยังคงพัฒนาการเจริญของเนื้อเยื่อเต้านมได้ (Romagnoli and Concannon, 2003)

โปรเจสตินที่ใช้ในการศึกษา

สำหรับในการวิจัยครั้งนี้ได้มุ่งเน้นที่จะทำการศึกษาโปรเจสตินชนิด MPA และ PROL ซึ่งเป็นโปรเจสตินที่นิยมใช้ในทางคลินิกเพื่อควบคุมวงจรการเป็นสัด และคุมกำเนิดของแมวบ้านในประเทศไทย โดยโปรเจสตินแต่ละชนิดมีรายละเอียดที่สำคัญดังนี้

1. Proligestone (PROL)

Proligestone หรือ 14 α ,17 α -propylidenedioxyprogesterone เป็น โปรเจสตินในรุ่นที่ 3 คุณสมบัติทางเคมีโดยทั่วไปของ PROL เป็นผลึกแข็งสีขาว หรือใส มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 150-155 องศาเซลเซียส(°ซ.) สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน และสารละลายที่มีไขมัน เช่น เอ็กซีน เบนซีน และ maize oil แต่ละลายได้ยากในน้ำ พบว่า PROL มีความคงตัว(stability) สูงเมื่ออยู่ในรูปของสารแขวนลอยในของเหลวซึ่งจะสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน 3 ปีที่อุณหภูมิห้อง (Van Os, 1982)

แต่เดิมนั้น PROL ได้ถูกสังเคราะห์ขึ้นในช่วงปลายทศวรรษที่ 60 และเริ่มมีการนำมาทดสอบเพื่อใช้ในการคุมกำเนิดในมนุษย์ เนื่องจากพบว่าโปรเจสตินชนิดนี้สามารถออกฤทธิ์กดวงจรการทำงานตามปกติของรังไข่ (ovarian cycle) และป้องกันการตั้งครรภ์ได้ โดยผลดังกล่าวเชื่อว่าเกิดขึ้นจากการออกฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งของฮอร์โมนในกลุ่มโกนาโดโทรปินผ่านกลไกในระดับ hypothalamic-pituitary level อย่างไรก็ตามในเวลาต่อมาพบว่าการออกฤทธิ์ PROL จะมีประสิทธิภาพลดลงเมื่อได้รับยาเข้าสู่ร่างกายโดยวิธีการกิน ซึ่งประเด็นดังกล่าวเป็นข้อจำกัดที่สำคัญทางการตลาดของผลิตภัณฑ์ยาคุมกำเนิดในมนุษย์ ทำให้การศึกษาและพัฒนาในด้านต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับ PROL เกิดการหยุดชะงัก และส่งผลให้พบข้อมูลทางด้านเภสัชวิทยาและพิษวิทยาของโปรเจสตินชนิดนี้ค่อนข้างน้อย แต่สิ่งที่ทำให้ PROL กลับได้รับความสนใจและเริ่มมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อนำมาใช้ในทางสัตวแพทย์คือ ในระหว่างขั้นตอนของการพัฒนาและทดสอบทางพิษวิทยาเบื้องต้นของโปรเจสตินชนิดนี้ก่อนการนำมาใช้ในมนุษย์นั้น มีการทดลองใช้ PROL ใน

ขนาดยาที่สูง (high dose) กับสุนัขพันธุ์ Beagle และพบว่าก่อให้เกิดการงอกขยายและเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมดลูกเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จากจุดดังกล่าวจึงเริ่มทำให้มีการศึกษาในทางคลินิกถึงการให้ PROL ในสุนัขตั้งแต่ ค.ศ. 1972 เป็นต้นมา (Van Os, 1982)

มีรายงานการใช้ PROL ในสุนัขและสัตว์ทดลองหลายชนิด โดยในสุนัขทดลองพันธุ์บีเกิ้ลเมื่อได้รับการฉีด PROL ขนาด 25 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (มก./ กก.) เข้าใต้ผิวหนัง พบว่าระดับของ PROL ในกระแสเลือดจะขึ้นสูงสุด (peak values) ภายในระยะเวลา 2-4 วัน โดยตรวจพบ PROL อยู่ที่ระดับ 15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร (นาโนกรัม/ มล.) จากนั้นระดับความเข้มข้นของ PROL ในกระแสเลือดจะลดลงอย่างรวดเร็ว โดยมีค่าครึ่งชีวิต (Half life; $t_{1/2}$) ของ PROL ในช่วงแรกภายหลังการได้รับโปรเจสทินชนิดดังกล่าวเข้าสู่ร่างกายเท่ากับ 8 วัน หลังจากนั้นระดับของโปรเจสทินในกระแสเลือดจะลดลงอย่างช้าๆ ซึ่งหากสังเกตจากประมาณวันที่ 35 จะพบค่าครึ่งชีวิตในระยะนี้อยู่ในช่วงวันที่ 89 ภายหลังจากการได้รับโปรเจสทิน ผลดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาในหนูทดลองที่พบว่าร้อยละ 30-40 ของ PROL ที่ฉีดเข้าสู่ร่างกายทางใต้ผิวหนังหรือกล้ามเนื้อจะถูกขับออกทางอุจจาระในช่วงระยะเวลา 10 วันแรก โดยพบปริมาณของโปรเจสทินถูกขับออกมากที่สุดในอุจจาระในช่วง 48-72 ชั่วโมง (ชม.) ขณะที่การขับ PROL ออกทางปัสสาวะมีปริมาณเพียง 1 ใน 10 ของปริมาณที่พบจากการตรวจในอุจจาระ โดยพบปริมาณ PROL มากที่สุดในน้ำปัสสาวะภายใน 24 ชม. นอกจากนี้ในการศึกษาการกระจายตัวของโปรเจสทินพบว่า PROL สามารถกระจายตัวจากจุดที่ทำการฉีดเข้าไปได้ไปสู่น้ำเยื่อของรังไข่ มดลูก และตับได้ดี โดยพบความเข้มข้นสูงสุดในน้ำเยื่อดังกล่าวภายในระยะเวลา 24 ชม. หลังได้รับสาร (Van Os, 1982)

การศึกษาเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของ PROL กับ MPA ในสัตว์ทดลองบางชนิด เช่น หนูและลิงพบว่า PROL มีการแสดงออกในด้าน anti-gonadotrophic และ progestational action ที่เด่นชัด ในขณะที่มีฤทธิ์ของ corticosteroid-like action เล็กน้อย แต่ไม่พบการแสดงออกของฤทธิ์ด้าน oestrogenic action androgenic action และ anti-androgenic action ซึ่งจุดดังกล่าวมีความแตกต่างจาก MPA ที่พบการแสดงออกฤทธิ์ของ androgenic action อย่างชัดเจน และแม้การทดลองในหนูจะไม่พบความแตกต่างของการออกฤทธิ์ในด้านช่วงระยะเวลาของการคุมกำเนิดระหว่าง PROL และ MPA ซึ่งสังเกตจากการตรวจระยะเวลาที่สัตว์เริ่มตั้งท้องภายหลังการได้รับโปรเจสทินแต่ละชนิด แต่การศึกษากการออกฤทธิ์ในด้านการกดการทำงานของรังไข่ในสุนัขและลิงบาบูนกลับพบว่า MPA มีการออกฤทธิ์กดการทำงานของรังไข่ได้ยาวนานกว่า PROL ซึ่งผลดังกล่าวอาจมีสาเหตุเนื่องจากความแตกต่างระหว่างชนิดของสัตว์อันมีส่วนสำคัญต่อรูปแบบของกระบวนการเมทาโบลิซึมและการขับโปรเจสทินแต่ละชนิดออกจากร่างกาย รวมถึงความแตกต่างในด้านการควบคุมกลไกการหลั่งของฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน และรูปแบบการสืบพันธุ์ของสัตว์ (Van Os, 1982)

ในปัจจุบันแม้จะมีรายงานว่าการใช้โปรเจสตินชนิด PROL ในสุนัขก่อให้เกิดการกระตุ้นผนังมดลูกและเนื้อเยื่อเต้านมน้อยกว่าการใช้โปรเจสตินชนิดอื่น แต่การศึกษาถึงผลของการใช้ PROL ในประเทศเนเธอร์แลนด์บ่งชี้ว่า PROL ก่อให้เกิดผลข้างเคียงได้เช่นเดียวกับการใช้ MPA และ MA (Romagnoli and Concannon, 2003) นอกจากนี้แม้จะมีการศึกษาข้อมูลและรายละเอียดในหลากหลายแง่มุมของการใช้ PROL ในสุนัข แต่สำหรับในแมวบ้านนั้นพบว่ายังมีรายงานการศึกษาหรือข้อมูลการใช้ PROL ในทางคลินิกอยู่น้อยมาก

2. Medroxyprogesterone acetate (MPA)

Medroxyprogesterone acetate หรือ 6-methyl-17 α -acetoxy-progesterone เป็นโปรเจสตินในรุ่นที่ 1 (first generation) ซึ่งถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์ในการใช้สำหรับการคุมกำเนิดในมนุษย์ ซึ่งในขั้นตอนของการผลิตและทดสอบความปลอดภัยของโปรเจสตินชนิดนี้ส่วนหนึ่งได้มีการทดสอบการใช้ยาในขนาดที่สูงแก่สุนัขและแมวร่วมอยู่ด้วย และเมื่อสังเกตพบว่าการออกฤทธิ์ของ MPA สามารถควบคุมวงจรการเป็นสัดในสัตว์ชนิดดังกล่าวได้ จึงเริ่มมีการนำมาทดลองใช้ในทางสัตวแพทย์ สำหรับในสุนัขและมนุษย์หากได้รับ MPA โดยการกินระดับของโปรเจสตินชนิดนี้จะเพิ่มขึ้นสูงสุดในกระแสเลือดภายใน 1-4 ชม. ในขณะที่หากทำการฉีดเข้ากล้ามเนื้อจะมีการกระจายของตัวยาออกจากจุดที่ทำการฉีดอย่างช้าๆ เป็นผลให้เมื่อตรวจวัดระดับของ MPA ในกระแสเลือดจะพบว่ามียาอยู่ในระดับที่ไม่สูงนัก แต่ปริมาณของยาจะอยู่ในระดับคงที่เป็นระยะเวลายาวนาน ขณะที่ในด้านการขับออกจากร่างกายนั้น MPA จะถูกเมทาโบไลซ์ที่ตับ โดยพบว่าในมนุษย์มีค่าครึ่งชีวิตของ MPA เมื่อให้โดยการกินอยู่ที่ 50 วัน (Lacy, 2002) พบว่าการได้รับ MPA โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อนั้นจะใช้เวลาในการกำจัดยาออกจากร่างกายยาวนานกว่าการได้รับยาโดยการกินประมาณ 6-10 เท่า ซึ่งส่วนใหญ่ นอกจากจะถูกขับออกจากร่างกายทางอุจจาระแล้วยังพบว่าสามารถถูกขับออกมาทางน้ำนมได้อีกทางหนึ่งด้วย และแม้ว่า MPA จะเป็นผลิตภัณฑ์ยาคุมกำเนิดทางสัตวแพทย์ที่มีการใช้ในหลายประเทศทั่วโลกโดยเฉพาะในทวีปยุโรป แต่สำหรับประเทศสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้มีการใช้ MPA เฉพาะในมนุษย์เท่านั้น (Romagnoli and Concannon, 2003)

ขนาดของยาและความถี่ของการให้โปรเจสตินชนิด MPA ในสัตว์เลี้ยงนั้นค่อนข้างมีความหลากหลาย อย่างไรก็ตามก็ตีขนาดของยาที่น้อยที่สุดซึ่งเหมาะสมสำหรับการเริ่มใช้ MPA อยู่ที่ประมาณ 2 มก./กก. โดยสามารถให้ซ้ำได้ทุก 3-4 เดือน หรืออาจใช้ในขนาด 3-5 มก./กก. โดยสามารถให้ซ้ำทุก 5-6 เดือน และเนื่องจากสาเหตุที่การใช้ MPA สามารถก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรงได้โดยเฉพาะในสัตว์ที่ได้รับยาในขนาดที่สูงหรือที่ได้รับยาเป็นเวลานาน รวมไปถึงการกำจัดยาออกจากร่างกายไม่รวดเร็วเท่าใดนัก ดังนั้นจึงมีข้อแนะนำของการใช้ยาว่าจะต้องมีความ

ระมัดระวังและควรที่จะใช้ MPA ในขนาดยาที่ต่ำที่สุดเท่าที่จะสามารถทำได้ (Romagnoli and Concannon, 2003) อย่างไรก็ตามสำหรับประเทศไทยโดยส่วนใหญ่ในทางปฏิบัติการใช้ MPA เพื่อการคุมกำเนิดแมວในทางคลินิกมักจะใช้ขนาด 50 มก./ตัว (1 มล./ตัว) ฉีดเข้ากล้ามเนื้อหรือฉีดเข้าใต้ผิวหนัง และอาจทำการฉีดซ้ำทุก 3 เดือนหากต้องการที่จะควบคุมการเป็นสัด หรือคุมกำเนิดอย่างต่อเนื่อง

ผลข้างเคียงของการใช้โปรเจสทินที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ในแมວ

ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้นถึงการคุมกำเนิดโดยใช้สารเคมีซึ่งเป็นทางเลือกของการคุมกำเนิดที่สำคัญโดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการจะควบคุมวงจรการเป็นสัดแบบชั่วคราวและไม่ต้องการที่จะทำหมัน (Jackson, 1984) ซึ่งการคุมกำเนิดโดยใช้โปรเจสทินนั้นมีข้อได้เปรียบที่ราคาไม่สูงเมื่อเทียบกับวิธีคุมกำเนิดวิธีอื่น นอกจากนี้หากมีการใช้อย่างเหมาะสมสัตว์ยังสามารถกลับมาสืบพันธุ์ได้หลังจากการหยุดการใช้สารดังกล่าว อย่างไรก็ตามที่ผ่านมานับตั้งแต่เริ่มมีการใช้โปรเจสทิน ได้มีการรายงานถึงผลข้างเคียงของการใช้โปรเจสทินบางชนิดต่อระบบสืบพันธุ์ของแมວบ้านอยู่เป็นจำนวนไม่น้อย ซึ่งการเกิดผลข้างเคียงจากการใช้โปรเจสทินนั้นอาจเกิดจากปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องและต้องคำนึงถึงหลายประการ ยกตัวอย่างเช่น ชนิด ขนาดยาและรูปแบบของการใช้โปรเจสทิน ความถี่ของการใช้ ความต่อเนื่องของระยะเวลาที่ใช้ และอายุของสัตว์ (Olson et al., 1993) สำหรับผลข้างเคียงของการใช้โปรเจสทินในแมວบ้านนั้นพบว่านอกจากความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม หรือเนื้องอกเต้านมแล้ว ยังอาจพบผลข้างเคียงในด้านอื่นๆอีก เช่น น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ปัสสาวะบ่อยขึ้น ตื่นน้ำมาก มีอาการซึม อ่อนเพลีย อารมณ์แปรปรวน มีปฏิสัมพันธ์ต่อฝูงลดลง ขนร่วง รวมไปถึงปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ อันได้แก่ การเกิดมดลูกอักเสบแบบมีหนอง ปัญหาการผสมไม่ติด และอาจส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงที่กระทบต่ออวัยวะ pituitary-adrenal axis รวมถึงกระบวนการ carbohydrate metabolism (Olson et al., 1993)

แม้มีรายงานว่าแมວบ้านมีความไวต่อการกระตุ้นการเจริญของผนังมดลูก และต่อมนี้้นมภายหลังจากการได้รับโปรเจสทินที่น้อยกว่าในสุนัข (Pineda, 2003) แต่จากการศึกษาการคุมกำเนิดในแมວโดยใช้ MPA ฉีดเข้าใต้ผิวหนังเพียงครั้งเดียว พบว่า MPA มีผลต่อการเหนี่ยวนำการงอกขยายของเต้านม ซึ่งเริ่มพบการงอกขยายของเต้านมได้ตั้งแต่วันที่ 3 ภายหลังจากได้รับยาโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (Loretti et al., 2005) นอกจากนี้ยังพบรายงานว่าการใช้โปรเจสทินเป็นระยะเวลานาน อาจเป็นสาเหตุให้เกิดการเจริญของต่อมน้ำนมผิดปกติและเกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูก (Jackson, 1984) สอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าการใช้ MPA ในแมວสามารถส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูกในลักษณะ cystic endometrial hyperplasia และเกิด hyperplastic changes ของ luminal และ glandular epithelium (Chatdarong et al., 2005)

ในส่วนในช่วงระยะเวลาที่สามารถสังเกตพบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในแมวกายหลังจากการได้รับโปรเจสทินทั้งชนิด MPA และ PROL นั้นแม้ยังไม่มีรายงานยืนยันเป็นที่แน่ชัด แต่จากการศึกษาของ Loretto et al. (2005) ที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น และข้อมูลด้านสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ของแมวบ่าน ซึ่งโดยทั่วไปพบว่าภายหลังจากการผสมพันธุ์ครั้งแรก แมวจะเกิดการตกไข่ภายใน 30-36 ชั่วโมง จากนั้น 1-2 วันระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจะเริ่มสูงขึ้น และจะขึ้นถึงระดับสูงสุดประมาณช่วงวันที่ 15 ถึง 25 หลังการผสมพันธุ์ โดยในระยะเวลาดังกล่าวสามารถที่ตรวจวัดระดับของฮอร์โมนได้ระหว่าง 15-90 นก./มล. (Roth et al., 1995) การเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนภายหลังจากเกิดการตกไข่นั้นเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญและพัฒนาของเยื่อบุผนังมดลูกเพื่อเตรียมพร้อมต่อการฝังตัวของตัวอ่อน ซึ่งโดยปกติจะเกิดขึ้นประมาณวันที่ 11-13 ภายหลังจากการตกไข่ (Gruffydd-Jones, 2004) ขณะที่ข้อมูลทางด้านเภสัชวิทยาบ่งชี้ว่าเมื่อทำการฉีด PROL ในขนาด 25 มก./กก. เข้าใต้ผิวหนังให้แก่สุนัข พบว่าระดับของ PROL ในกระแสเลือดจะขึ้นสูงที่สุดภายใน 2-4 วันหลังได้รับการฉีด โดยตรวจพบ PROL อยู่ที่ระดับ 15 นก./มล. และค่าครึ่งชีวิตของ PROL ในช่วงแรกนี้จะเท่ากับ 8 วัน ดังนั้นเมื่อพิจารณาข้อมูลดังกล่าวจึงมีเหตุผลที่ทำให้เชื่อได้ว่าหากโปรเจสทินชนิด PROL หรือ MPA มีฤทธิ์ในการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในแมวบ่านได้ ก็น่าที่จะสามารถพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาประมาณ 15 วัน ซึ่งได้กำหนดไว้สำหรับการศึกษานี้

วงจรรการเป็นสัดในแมว

เนื่องจากการวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะทำการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากการได้รับโปรเจสทินแต่ละชนิดในเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมของแมวบ่านที่อยู่ในระยะ interestrus หรือ anestrus เพื่อหลีกเลี่ยงผลการทดลองที่อาจคลาดเคลื่อนจากผลจากการกระตุ้นโดยฮอร์โมนที่สร้างขึ้นจากรังไข่ ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะได้กล่าวถึงข้อมูลที่สำคัญบางประการที่เกี่ยวข้องกับวงจรรการเป็นสัด และการตรวจวงจรรการเป็นสัดในแมวบ่านเพศเมียซึ่งมีรายละเอียดกล่าวคือ โดยทั่วไปพบว่าแมวบ่านเพศเมียจะพร้อมเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ ตั้งแต่ช่วงอายุประมาณ 5 เดือน หรืออาจล่วงไปกระทั่งถึงอายุ 18 เดือน ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านพันธุ์ น้ำหนักตัวของสัตว์ และฤดูกาล (Pineda, 2003) อย่างไรก็ตามแมวที่เลี้ยงปล่อยภายนอกบ้านจะมีแนวโน้มที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ได้เร็วกว่าแมวที่เลี้ยงไว้แต่ภายในบ้าน ทั้งนี้อาจมีสาเหตุเนื่องจากผลของการได้รับความยาวของช่วงแสงในแต่ละวัน (photoperiod) ซึ่งพบว่าแมวในกลุ่มแรกนั้นมีโอกาสได้รับความยาวของช่วงแสงในแต่ละวันที่ยาวนานกว่า (Pineda, 2003)

รูปแบบวงจรการเป็นสัดของแมวนั้นจัดอยู่ในประเภท seasonally polyestrous และต้องอาศัยพฤติกรรมกรรมการผสมพันธุ์เพื่อช่วยเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ โดยเมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะ proestrous พบว่าแมวจะแสดงอาการทางพฤติกรรมโดยการถู หรือไถสีระเซ่ไปกับวัตถุต่างๆ ร่วมกับการกลิ้งตัวไปมาบนพื้น แต่จะยังไม่ยอมรับการผสมพันธุ์จากแมวเพศผู้ ระยะนี้อาจยาวนานประมาณ 1-3 วัน หลังจากนั้นแมวจะเข้าสู่ระยะ estrus ซึ่งมีระยะเวลาเฉลี่ยประมาณ 7 วัน โดยแมวจะเริ่มมีพฤติกรรมส่งเสียงร้องดังๆ เป็นเวลานาน มีการโก่งและเกร็งหลัง รวมทั้งเบี่ยงหางไปข้างลำตัวเมื่อได้รับการกระตุ้นหรือสัมผัสบริเวณ perineum และ vulva ซึ่งเป็นพฤติกรรมที่แสดงออกถึงการยอมรับการผสมพันธุ์จากแมวตัวผู้ และเมื่อผ่านระยะนี้ไปแล้วแมวจะเข้าสู่ระยะ interestrus หรือ anestrus โดยจะเป็นช่วงที่แมวเพศเมียปฏิเสธการผสมพันธุ์ของแมวตัวผู้ โดยอาจแสดงออกด้วยการข่วนหรือทำเสียงขู่เพื่อป้องกันตัว ในกรณีที่แมวไม่ได้รับการผสมพันธุ์ ช่วง interestrus อาจจะมีระยะเวลาประมาณ 10 วัน อย่างไรก็ตามหากแมวได้รับการผสมพันธุ์และเกิดการตกไข่แต่ไม่ตั้งท้อง (sterile-mated) ช่วงระยะ interestrus จะยาวนานออกไป เฉลี่ยประมาณ 45 วัน (Pineda, 2003)

เมื่อทำการตรวจลักษณะเซลล์เยื่อบุช่องคลอดในระยะต่างๆ ของวงจรการเป็นสัดในแมว พบว่าในระยะที่มีการเจริญของฟอลลิเคิล (follicular phase) อันได้แก่ ช่วงระยะ proestrus และระยะ estrus จะพบลักษณะเซลล์ส่วนใหญ่กว่าร้อยละ 50 เป็น superficial cells ซึ่งมีนิวเคลียสขนาดเล็ก (pyknotic nucleus) ขณะที่ร้อยละ 40 เป็นชนิด cornified cells โดยพบ intermediate cells ได้จำนวนน้อย นอกจากนี้ในระยะดังกล่าวจะไม่พบ cellular debris จึงทำให้สังเกตเห็นพื้นที่ว่างระหว่างเซลล์เยื่อบุช่องคลอดบนแผ่นสไลด์แก้วมีลักษณะใส (clear background) ส่วนในระยะหลังการเป็นสัดซึ่งการพัฒนาของฟอลลิเคิลได้หยุดลง ส่งผลให้มีการหลังฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลง หรืออาจเกิดการตกไข่และเข้าสู่ระยะที่ได้รับอิทธิพลจากฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนนั้น จะสังเกตเห็นเซลล์ intermediate, parabasal และ superficial cells ปะปนกัน นอกจากนี้ยังสังเกตเห็น cellular debris ระหว่างพื้นที่ว่างของเซลล์เยื่อบุช่องคลอด อย่างไรก็ตามในการตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอดในแมวบ้านนั้นสิ่งที่จะต้องตระหนักและคำนึงถึงอย่างหนึ่งคือ กระบวนการในการตรวจลักษณะของเซลล์เยื่อบุช่องคลอด ซึ่งจำเป็นที่จะต้องสอดก้านสำลี เข้าไปเก็บตัวอย่างของเซลล์ในช่องคลอดนี้อาจมีส่วนที่กระตุ้นและเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ของแมวที่อยู่ในระยะ estrus ได้ (Pineda, 2003)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ประชากร

คัดเลือกกลุ่มตัวอย่างจากแม่วเปศเมียที่เจ้าของนำมาแจ้งความประสงค์เพื่อเข้ารับการทำหมัน หรือฉีดยาคุมกำเนิดจากสถานบำบัดโรคสัตว์ ได้แก่ หน่วยสูติกรรม โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และโรงพยาบาลสัตว์เอกชน ซึ่งกลุ่มตัวอย่างที่คัดเลือกเข้าร่วมการศึกษาจะต้องมีคุณสมบัติดังนี้

1. เป็นแม่วเปศเมียอายุตั้งแต่ 5 เดือนขึ้นไป
2. ผ่านการตรวจสุขภาพแล้วว่ามีสุขภาพที่แข็งแรงสมบูรณ์
3. ไม่เคยมีประวัติการป่วยด้วยโรคทางระบบสืบพันธุ์
4. ไม่อยู่ในระยะตั้งท้อง
5. ไม่เคยให้กำเนิดลูก
6. ไม่เคยได้รับฮอร์โมนโปรเจสตินมาก่อน

การแบ่งกลุ่มทดลอง

แมวที่ผ่านเกณฑ์คัดเลือกจะถูกแบ่งกลุ่มด้วยวิธีการสุ่มเลือกตัวอย่าง(randomization) ออกเป็น 3 กลุ่ม จำนวนกลุ่มละ 6 ตัว ดังนี้

1. กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม แมวจะได้รับการฉีด 0.9% normal saline solution (NSS)
2. กลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลอง แมวได้รับการฉีดโปรเจสตินชนิด PROL
3. กลุ่มที่ 3 กลุ่มทดลอง แมวได้รับการฉีดโปรเจสตินชนิด MPA

วิธีดำเนินงานวิจัย

1. ขั้นตอนเตรียมดำเนินงานวิจัย

1.1 การตรวจสอบประวัติ

ทำการซักประวัติและบันทึกข้อมูลที่สำคัญของแมวแต่ละตัวจากเจ้าของในส่วนที่เกี่ยวข้องกับ อายุ การเลี้ยงดู พฤติกรรม ประวัติการเจ็บป่วยทั่วไป ประวัติการเจ็บป่วยหรือโรคทางระบบสืบพันธุ์ ประวัติการทำวัคซีน การเป็นสัตว์ และการได้รับยาคุมกำเนิด

1.2 การตรวจร่างกาย

ทำการตรวจร่างกายทั่วไป (physical examination) ได้แก่ การคลำตรวจความผิดปกติของอวัยวะภายนอก สภาพเส้นขนและผิวหนัง และตรวจดูปรสิตร่างกายนอก จากนั้นจึงทำการวัดค่า capillary refill time (CRT) และตรวจหารอยโรคหรือแผลในช่องปาก การฟังเสียง

จังหวะการเต้นของหัวใจและเสียงหายใจผ่านทางช่องอก รวมถึงการคลำตรวจช่องท้อง ในกรณีที่พบว่าสัตว์มีปัญหาด้านสุขภาพ หรือมีข้อบ่งชี้ว่าสุขภาพไม่แข็งแรงจะถูกคัดออก พร้อมกับให้คำแนะนำในการดูแลสุขภาพอย่างเหมาะสมแก่เจ้าของต่อไป ส่วนในแมวที่มีประวัติการสืบพันธุ์ที่ไม่ชัดเจนหรือมีข้อบ่งชี้ว่าสัตว์อาจเคยได้รับการผสมพันธุ์มาก่อนหน้านี้ จะต้องดำเนินการตรวจการตั้งท้องด้วยวิธีอัลตราซาวด์อย่างน้อย 2 ครั้ง โดยเว้นระยะเวลาห่าง 1-2 สัปดาห์ ซึ่งหากผลการตรวจยืนยันการตั้งท้องจะทำการคัดตัวอย่างดังกล่าวออกเช่นกัน

1.3 การตรวจวงจรการเป็นสัด

แมวที่ผ่านการตรวจสุขภาพประวัติ และการตรวจร่างกายเรียบร้อยแล้วจะได้รับการตรวจหาระยะของวงจรการเป็นสัด โดยอาศัยข้อมูล 3 ด้านประกอบกัน ได้แก่

1.3.1 การสังเกตพฤติกรรม ในการสังเกตพฤติกรรมการเป็นสัดของแมวนั้น จะเริ่มต้นตั้งแต่ขณะที่ทำการตรวจร่างกายโดยดูจากลักษณะที่แสดงออกทั่วไป ได้แก่ การส่งเสียงร้อง การถูและกลิ้งตัวไปมา รวมทั้งสังเกตการตอบสนองของสัตว์เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยมือบริเวณ perineal area โดยอาจพบการเบี่ยงหาง การย่ำเท้าหลัง และการเกร็งหลัง ภายหลังจากการสังเกตพฤติกรรมจะต้องทำการยืนยันผลด้วยการตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอดอีกครั้ง ซึ่งหากแมวตัวใดที่มีผลการตรวจลักษณะเซลล์เยื่อบุช่องคลอดบ่งชี้ยืนยันว่าอยู่ในระยะ estrus จะนำไปดูแลไว้ในกรงเลี้ยงรวมและทำการสังเกตพฤติกรรมต่อเนื่องไป จนกระทั่งพบว่าแมวพ้นจากระยะดังกล่าวจึงนำกลับมาตรวจยืนยันลักษณะเซลล์เยื่อบุช่องคลอดอีกครั้ง ขณะที่ในแมวซึ่งมีผลการตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอดบ่งชี้ว่าอยู่นอกระยะ estrus จะดำเนินการตรวจวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพื่อเป็นข้อมูลสำคัญต่อการบ่งชี้ว่าแมวยังอยู่ในช่วงระยะ interestrus หรือผ่านการตกไข่ไปแล้ว

1.3.2 การตรวจลักษณะเซลล์เยื่อบุช่องคลอด (vaginal cytology) การตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอดในแมวแต่ละตัวนั้นจะทำอย่างน้อย 2 ครั้ง คือก่อนที่จะทำการฉีดโปรเจสเตอโรน และในวันที่ทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อหลอดและเต้านม ทำโดยการจับบังคับให้แมวนอนในท่า sternal recumbency จากนั้นใช้ cotton swab (Förbandsmaterial AB, Partille, Sweden) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มม. ที่ชุบด้วยสารละลาย 0.9% NSS สอดเข้าสู่ช่องคลอด ป้าย cotton swab ลงบนสไลด์แก้ว ผึ่งให้แห้งและทำการย้อมเพื่อดูเซลล์โดยใช้ modified Wright's Giemsa (Dip Quik, Clinag, Bangkok, Thailand) ในการประเมินและบ่งชี้ช่วงวงจรการเป็นสัดในแมวโดยอาศัยลักษณะเซลล์เยื่อบุช่องคลอดนั้นหากพบว่าตัวอย่างใดที่มีลักษณะของพื้นหลังสไลด์ที่มีความโปร่งใส และมีเซลล์ superficial epithelium มากกว่าร้อยละ 80 จะตัดสินว่าแมวตัวดังกล่าวอยู่ในระยะ estrus ซึ่งสำหรับแมวที่มีการตรวจและได้รับการประเมินว่าอยู่ในช่วง estrus จะได้รับการเลี้ยงดูและสังเกตพฤติกรรมจนกระทั่งไม่พบพฤติกรรมการเป็นสัดจึงจะนำกลับมาตรวจอีกครั้ง

1.3.3 ตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือด การตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือด (serum progesterone) จะทำอย่างน้อย 2 ครั้ง เช่นเดียวกับการตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอด โดยครั้งแรกจะกระทำภายหลังจากผลการตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอดบ่งชี้ว่าสัตว์อยู่ในช่วง interestrus หรือ anestrus และหากการตรวจระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอยู่ของตัวอย่างดังกล่าวต่ำกว่าระดับ 2 นาโนกรัม/มล. จึงจะดำเนินการฉีดสารทดลองให้แก่สัตว์ภายใน 24-48 ชม. ส่วนการตรวจระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนครั้งที่สองนั้นจะดำเนินการในวันที่ทำการผ่าตัดเพื่อเก็บตัวอย่าง อย่างไรก็ตามในกรณีที่ผลการตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอดบ่งชี้ว่าสัตว์ไม่ได้อยู่ในช่วง estrus แต่กลับมีผลการตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงกว่า 2 นาโนกรัม/มล. แสดงถึงภาวะที่สัตว์อาจมีการตกไข่และผ่านเข้าสู่ระยะ diestrus หรืออาจมีการตั้งท้อง กรณีดังกล่าวจะต้องทำการตรวจการตั้งท้องด้วยวิธีอัลตราซาวด์ ซึ่งหากตรวจไม่พบการตั้งท้องในครั้งแรก จะทำการตรวจซ้ำในอีก 7-14 วันถัดไปเพื่อยืนยันผล สำหรับวิธีในการเก็บตัวอย่างเลือดของแมวเพื่อส่งตรวจนั้น จะทำการเก็บเลือดจากหลอดเลือด cephalic vein หรือ medial saphenous vein ในปริมาณ 1-2 มล. จากนั้นแยกซีรัมและส่งตัวอย่างให้แก่ ศูนย์การตรวจวิเคราะห์และวิจัยทางการแพทย์ (บริษัท กรุงเทพ อารีโอเอ แล็บ จำกัด) ภายในระยะเวลา 12-24 ชม. ซึ่งจะทำการตรวจตรวจหาระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยเทคนิค Chemiluminescent Microparticle Immunoassay; CMIA (Architect® Progesterone, Abbott Laboratories, USA)

แมวที่ผ่านเกณฑ์การตรวจสอบประวัติ การตรวจร่างกาย และตรวจวงรอบการเป็นสัดแล้ว รวมถึงแมวที่อยู่ในระหว่างการศึกษาก็จะได้รับดูแลภายในกรงเลี้ยงรวม โดยให้อาหารเม็ดสำเร็จรูป (Feline Adult, Scient Diet, Hill's Pet Nutrition, Topeka, KS, USA) และจัดให้มีน้ำสะอาดสำหรับดื่มตลอดเวลา ซึ่งในการดำเนินการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ได้เสนอและผ่านความเห็นชอบจาก คณะกรรมการจริยบรรณการใช้สัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ขั้นตอนงานวิจัย

กลุ่มที่ 1. ให้ Placebo โดยใช้ NSS ปริมาณ 1 มล./ตัว โดยฉีดเข้าบริเวณชั้นใต้ผิวหนังระหว่างหัวไหล่

กลุ่มที่ 2. ให้ PROL (Covinan®, Intervet, Holland) ขนาด 100 มก./ตัว (1 มล./ตัว) โดยฉีดเข้าบริเวณใต้ผิวหนังระหว่างหัวไหล่

กลุ่มที่ 3. ให้ MPA (Depo-M®, Vesco Pharmaceutical Ltd., Thailand) ในปริมาณ 50 มก./ตัว (1 มล./ตัว) โดยฉีดเข้าบริเวณกล้ามเนื้อ hamstring

จากนั้นทำการเลี้ยงแมวทั้ง 3 กลุ่ม ต่อเนื่องไปเป็นเวลา 15 วัน

2.1 การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านม

ทำการเก็บตัวอย่างของเนื้อเยื่อเต้านมและมดลูกในวันที่ 15 หลังจากการให้สารทดลอง ที่ห้องผ่าตัด ภายในหน่วยสูติกรรม โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยขั้นตอนเริ่มจากการวางยาสลบแมวโดยใช้ Ketamine (Keta-hameln, Hameln pharmaceuticals, Germany) ขนาด 10 มก./กก. ร่วมกับ Xylazine (Seton 2%, Laboratorios Calier, Spain) ขนาด 3 มก./กก. และ Atropine sulfate (Atropine Sulphate, Union drug laboratories, Thailand) ขนาด 0.04 มก./กก. จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อมดลูกตามขั้นตอนปฏิบัติในการผ่าตัดทำหมันแมวเพศเมีย (Ovariohysterectomy) โดยทำการผ่าตัดในบริเวณตำแหน่ง left flank area (Howe, 2006) ขณะที่การเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อเต้านมทำในบริเวณ caudal abdominal mammary gland โดยการกรีดเปิดผิวหนังยาวตามแนวยาว (sagittal plane) ประมาณ 1 ซม. บริเวณด้านข้างของเต้านมฝั่งด้านในของลำตัว ห่างจากบริเวณหัวนมประมาณ 5 มม. ทำการตัดเก็บเนื้อเยื่อเต้านมในบริเวณใต้ฐานหัวนม สำหรับการดูแลแมวภายหลังการผ่าตัดนั้น จะทำแผลและฉีดยาปฏิชีวนะ Penicillin-streptomycin (Shotapen LA[®], Thailand) ขนาด 20,000 IU/กก. ต่อเนื่องกันเป็นเวลา 4 วัน ร่วมกับการให้ยาลดการอักเสบแบบไม่มีสเตียรอยด์ Vedaprofen (Quadrisol[®], Intervet, Thailand) ในขนาด 0.1 มก./ กก. เป็นเวลา 2 วัน ส่วนการตัดไหมจะทำประมาณวันที่ 10 หลังการผ่าตัด

ตัวอย่างมดลูกที่ได้จะนำมาล้างด้วย 0.9% NSS เพื่อขจัดคราบเลือดออกหลังการผ่าตัด จากนั้นจึงทำการตัดส่วนรังไข่ ท่อนำไข่ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ติดมาออกให้มากที่สุด แล้วจึงนำไปตรวจลักษณะทางมหกายวิภาค ส่วนเนื้อเยื่อเต้านมหลังการเก็บตัวอย่างจะทำการเก็บรักษาโดยการแช่ในน้ำยาบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์เพื่อรอการตรวจทางจุลกายวิภาคต่อไป

2.2 การตรวจทางมหกายวิภาค (Gross anatomy)

ตัวอย่างมดลูกของแมวจะได้รับการตรวจและบันทึกข้อมูลลักษณะทางมหกายวิภาค ได้แก่

2.2.1 ลักษณะภายนอกของปีกมดลูก (เป็นเส้นตรง หรือ โค้งงอ)

2.2.2 ความยาวของปีกมดลูก (หน่วยวัดเป็น ซม.) โดยการวัดด้านใน (median) ของปีกมดลูกจากบริเวณ uterotubal junction ไปจรด bicornual of uterus โดยในแต่ละตัวอย่างนั้นค่าความยาวที่ได้จากการวัดมดลูกทั้งสองข้างจะนำมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อใช้เป็นตัวแทนความยาวของปีกมดลูกสำหรับตัวอย่างนั้นๆ

2.2.3 น้ำหนักของมดลูก (หน่วยวัดเป็น ก.)ซึ่งน้ำหนักมดลูกแต่ละตัวอย่าง โดยใช้เครื่องชั่งสาร (Sartorius DP-300S, Germany) ซึ่งมีค่าความละเอียดของการวัดสูงสุด เท่ากับ 0.001 ก.

2.2.4 เส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูก (หน่วยวัดเป็น มม.)วัดตัวอย่าง มดลูกข้างละ 2 ตำแหน่ง ได้แก่ ตำแหน่งได้ uterotubal junction ประมาณ 1 ซม. และตำแหน่งเหนือ bicornual of uterus ประมาณ 1 ซม. ซึ่งขั้นตอนการวัดจะทำการตัดปีกมดลูกตามขวางใน ตำแหน่งที่ได้อ้างอิงไว้ โดยให้ชิ้นเนื้อมีความหนาประมาณ 1 มม. จากนั้นจึงทำการวัดขนาดเส้น ผ่านศูนย์กลางของมดลูก (outer diameter) และเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อ (luminal diameter) ภายใต้กล้อง stereomicroscope (Olympus SZ-40, Japan) โดยใช้ microscopic scale ค่าที่ได้ จากการวัดจะถูกนำมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อใช้เป็นค่าแทนเส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูกสำหรับแมว แต่ละตัว ส่วนชิ้นเนื้อที่ผ่านการวัดแล้วจะถูกรักษาไว้ในน้ำยาบัพเฟอร์ฟอร์มาลินความเข้มข้น 10% เพื่อนำเข้าสู่การตรวจทางจุลพยาธิวิทยาต่อไป

2.3 การตรวจลักษณะทางจุลพยาธิวิทยา

ตัวอย่างของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมจะนำมาผ่านขั้นตอนทางเทคนิค เนื้อเยื่อวิทยา เริ่มด้วยการดึ่งน้ำออกจากเนื้อเยื่อโดยใช้แอลกอฮอล์ 70, 80, 95 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แล้วจึงนำเนื้อเยื่อมาผ่านไโซลีน จากนั้นทำการแช่ในพาราฟินซึ่งจะทำให้ได้ เนื้อเยื่อที่ฝังตัวอย่างอยู่ในพาราฟิน ทำการตัดชิ้นเนื้อให้มีความหนา 4-6 ไมครอน และย้อมด้วยสี hematoxylin and eosin (H&E) โดยผ่านขั้นตอนของการละลายพาราฟินออกจากเนื้อเยื่อ (deparafinization) โดยใช้ไโซลีน แล้วจึงทำการเติมน้ำเข้าสู่เนื้อเยื่อ (rehydration) โดยการแช่ใน แอลกอฮอล์เริ่มต้นจาก 100, 95, 85 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากนั้นจึงย้อมด้วยสี hematoxylin และ eosin ตัวอย่างของเนื้อเยื่อที่นำมาศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา ได้แก่

2.3.1 เนื้อเยื่อของมดลูก

ก. ลักษณะเซลล์เยื่อบุผนังมดลูก (luminal epithelial layer classification) จำแนกการจัดเรียงตัวของเซลล์แบบ เยื่อบุชั้นเดียว (single epithelial layer) เยื่อบุ ชั้นเดียวที่มีการเรียงคล้ายการซ้อนทับ (pseudostratified epithelial layer) หรือเซลล์เยื่อบุที่ งอกขยาย (hyperplastic epithelial layer)

ข. ลักษณะเซลล์เยื่อบุของต่อมในชั้น endometrium (glandular layer of glandular epithelium) จำแนกการจัดเรียงตัวของเซลล์แบบ เยื่อบุชั้นเดียว (single epithelial layer) เยื่อบุ ชั้นเดียวที่มีการเรียงคล้ายการซ้อนทับ (pseudostratified epithelial

layer) หรือ เซลล์เยื่อบุผนังอกขยาย (hyperplastic epithelial layer) และการเปลี่ยนแปลงเป็นถุงน้ำ (cystic formation)

ค. วัดการหนาตัวของชั้น endometrium และชั้น myometrium

นำมาคำนวณหาอัตราส่วน

2.3.2 เนื้อเยื่อเต้านม

ลักษณะเนื้อเยื่อเต้านม (Characteristics of mammary tissue)

จำแนกการเปลี่ยนแปลงเป็น ปกติ (normal) การงอกขยายแบบ fibroepithelial hyperplasia การงอกขยายแบบ lobular hyperplasia หรือ duct ectasia

นอกจากนี้ในการศึกษาเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมทางจุลพยาธิวิทยาได้จัดให้ทำการให้คะแนนตามเกณฑ์ที่ตั้งขึ้นโดยอ้างอิงตามลักษณะความรุนแรงของการงอกขยายที่สังเกตพบซึ่งมีเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

เนื้อเยื่อมดลูก

1. การงอกขยายของต่อมในชั้น endometrium

0 คะแนน : พบการงอกขยายน้อยกว่าร้อยละ 10

1 คะแนน : พบการงอกขยายน้อย (น้อยกว่าประมาณร้อยละ 30 ของพื้นที่ในชั้น endometrium)

2 คะแนน: พบการงอกขยายปานกลาง (ร้อยละ 30-70 ของพื้นที่ในชั้น endometrium)

3 คะแนน : พบการงอกขยายมาก (มากกว่าร้อยละ 70 ของพื้นที่ในชั้น endometrium)

2. การสร้างสสารคัดหลั่งจากต่อมในชั้น endometrium

0 คะแนน : พบการสร้างสสารคัดหลั่งน้อยกว่าร้อยละ 10

1 คะแนน: พบการสร้างสสารคัดหลั่งน้อย (ประมาณร้อยละ 10-30 ของต่อมในชั้น endometrium)

2 คะแนน : พบการสร้างสสารคัดหลั่งปานกลาง (ร้อยละ 30-70 ของต่อมในชั้น endometrium)

3 คะแนน : พบการสร้างสสารคัดหลั่งมาก (มากกว่าร้อยละ 70 ของต่อมในชั้น endometrium)

3. การขยายขนาดของต่อมในชั้น endometrium

- 0 คะแนน: พบการขยายขนาดของต่อมน้อยกว่าร้อยละ 10
- 1 คะแนน: พบการขยายขนาดของต่อมน้อย (ร้อยละ 10-30 ของจำนวนต่อม)
- 2 คะแนน: พบการขยายขนาดของต่อมปานกลาง(ร้อยละ30-70 ของจำนวนต่อม)
- 3 คะแนน:พบการขยายขนาดของต่อมมาก(มากกว่าร้อยละ70 ของจำนวนต่อม)

เนื้อเยื่อเต้านม

1. การงอกขยายของต่อมน้ำนม (lobular periferation)

- 0 คะแนน : พบการงอกขยายน้อยกว่าร้อยละ 10 ของพื้นที่ในเนื้อเยื่อเต้านม
- 1 คะแนน : พบการงอกขยายน้อย (น้อยกว่าประมาณร้อยละ 30 ของพื้นที่ในเนื้อเยื่อเต้านม)
- 2 คะแนน : พบการงอกขยายปานกลาง (ร้อยละ 30-70 ของพื้นที่ในเนื้อเยื่อเต้านม)
- 3 คะแนน : พบการงอกขยายมาก (มากกว่าร้อยละ 70 ของพื้นที่ในเนื้อเยื่อเต้านม)

2. การเจริญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (fibrostromal periferation)

- 0 คะแนน : พบการขยายขนาดของต่อมน้อยกว่าร้อยละ 10ของพื้นที่ในเนื้อเยื่อเต้านม
- 1 คะแนน : พบการขยายขนาดของต่อมน้อย (ร้อยละ 10-30 ของพื้นที่ในเนื้อเยื่อเต้านม)
- 2 คะแนน : พบการขยายขนาดของต่อมปานกลาง (ร้อยละ 30-70ของพื้นที่ในเนื้อเยื่อเต้านม)
- 3 คะแนน : พบการขยายขนาดของต่อมมาก (มากกว่าร้อยละ 70 ของพื้นที่ในเนื้อเยื่อเต้านม)

3. การสร้างสิ่งคัดหลั่งจากถุงผลิตน้ำนม (alveolar secretion)

- 0คะแนน : พบการสร้างสารคัดหลั่งน้อยกว่าร้อยละ 10 ของจำนวนถุงผลิตน้ำนม
- 1คะแนน : พบการสร้างสารคัดหลั่งน้อย (ประมาณร้อยละ10-30ของจำนวนถุงผลิตน้ำนม)
- 2คะแนน : พบการสร้างสารคัดหลั่งปานกลาง (ร้อยละ 30-70 ของจำนวนถุงผลิตน้ำนม)
- 3คะแนน : พบการสร้างสารคัดหลั่งมาก (มากกว่าร้อยละ 70 ของจำนวนถุงผลิตน้ำนม)

4. การขยายขนาดของท่อน้ำนม (ductal dilatation)

- 0 คะแนน : มีการขยายขนาดของต่อมน้อยกว่าร้อยละ 10 ของจำนวนที่พบ
- 1 คะแนน : มีการขยายขนาดของต่อมน้อย (ร้อยละ 30-70 ของจำนวนที่พบ)
- 2 คะแนน : มีการขยายขนาดของต่อมปานกลาง (ร้อยละ 30-70 ของจำนวนที่พบ)
- 3 คะแนน : มีการขยายขนาดของต่อมมาก (มากกว่าร้อยละ 70 ของจำนวนที่พบ)

2.4 การตรวจสอบโดยวัดดัชนีการงอกขยาย (proliferative marker)

ทำการตรวจวัด proliferative activity โดยใช้ค่าดัชนี Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) ซึ่งขั้นตอนจะเริ่มต้นจากการเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อที่มีความหนา 4-6 ไมครอน นำมาทำการละลายพาราฟินและผ่านกระบวนการเติมน้ำเข้าสู่เนื้อเยื่อเช่นเดียวกับขั้นตอนการศึกษาเนื้อเยื่อทางจุลพยาธิวิทยา จากนั้นจึงลดผลของปฏิกิริยาจาก non-specific endogenous peroxidase binding โดยแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3%(w/w) ในเมธานอลบริสุทธิ์ (absolute methanol) นาน 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการ pretreatment โดยการใช้เครื่องอบไอน้ำความดันสูง ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 5 นาที แล้วจึงลดผลของปฏิกิริยาจาก non-specific binding อื่นๆโดยการใช้สารละลาย bovine serum albumin (BSA; Fluka®, Switzerland) ความเข้มข้น 10%(w/v) ใน phosphate buffer saline (PBS) บ่มที่อุณหภูมิ 30°C นาน 30 นาที หยด monoclonal mouse anti-PCNA antibody (DAKO®, Denmark) ที่ความเข้มข้น 1 ต่อ 200 ส่วน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 4°C นาน 12-14 ชม. หยด biotinylated rabbit anti-mouse IgG antibody (DAKO®, Denmark) ในขนาดความเข้มข้น 1 ต่อ 400 ส่วน บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที หยดสารละลาย avidin-biotin peroxidase solution (ABC kit, DAKO, Denmark) และบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ทำให้เกิดสีโดยการเติมสารละลาย DAB (Sigma, U.S.A.) ความเข้มข้น 0.05% ใน 0.05 M Tris-HCl pH 7.6 แล้วย้อมทับด้วยสี Mayer's hematoxylin ตรวจผลโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงสว่างโดยใช้กำลังขยาย 40 เท่า นับจำนวนเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ 500 เซลล์ โดยเปรียบเทียบกับแผ่นสไลด์ควบคุมที่ให้ผลบวกจากเนื้อเยื่อลำไส้ของหนู

2.5 การศึกษาทางจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน

ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในระดับมหจุลกายวิภาค (ultrastructure) เตรียมชิ้นเนื้อ โดยเริ่มจากนำตัวอย่างมาตรึงสภาพครั้งแรกด้วย glutaraldehyde ความเข้มข้น 2-5% ใน PBS buffer ที่อุณหภูมิ 4°C แล้วจึงทำการล้างด้วย sodium phosphate buffer ที่อุณหภูมิ 4°C ทำการตรึงสภาพครั้งที่สองด้วย 1 เปอร์เซ็นต์

osmium tetroxide(OsO_4) ใน H_2O แล้วทำการตั้งน้ำออกด้วย grating ethanol; 15, 30, 50, 70, 85, 95 และ 100% ที่อุณหภูมิ 4°C . ตามลำดับ ตามด้วย acetone ความเข้มข้น 100% 3 ครั้ง จากนั้น infiltration ด้วย resin เจือจางกับ acetone เพื่อแทรก epoxy resin (embedding media) เข้าสู่เนื้อเยื่อก่อนที่จะทำการ embedding เมื่อผ่านขั้นตอนดังกล่าวจึงทำการ embedding ใน embedding media ซึ่งประกอบด้วย Resin : Epon 812 จำนวน 51.13 ก., Hardeners : DDSA (dodeceny succinic anhydride) จำนวน 27.02 ก., NMA(nadic methyl anhydride) จำนวน 21.85 ก., Accelerator:DMP-30 (2,4,6-tridimethylamino methyl phenol) จำนวน 1.5-2.0 มล. หลังจากนั้น curing โดยการใส่ในตู้อบเพื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น $60-70^\circ\text{C}$. เป็นเวลา 1-3 วัน ทำการตัดแต่ง specimen block โดยตัด section หนา 2.0 ไมโครเมตร ด้วย glass knife และย้อมด้วย toluidine blue staining ความเข้มข้น 1% เมื่อได้ตำแหน่งที่ต้องการแล้วจึงทำการตัดแต่งอีกครั้ง โดยการตัด section หนา 60-120 นาโนเมตร ด้วย diamond knife แล้วเรียงลงบน grid จากนั้นทำการย้อมสี positive staining ด้วย uranyl acetate (in H_2O or EtOH) และ lead citrate ที่อุณหภูมิห้องและหลีกเลี่ยงแสง ขั้นตอนต่อไปทำ negative staining ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (JOEL, JEM-2100 electron microscope, ศูนย์วิจัยและเครื่องมือวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) และทำการบันทึกภาพ

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Package for the Social Science) ใช้ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

1. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางมหากายวิภาค ได้แก่ น้ำหนักของมดลูก น้ำหนักมดลูก-สัมพัทธ์ และความยาวของมดลูก โดยใช้วิธี One-way ANOVA และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test
2. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลของเส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูก และเส้นผ่านศูนย์กลางของโพรงมดลูก โดยใช้วิธี One-way ANOVA และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test
3. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางจุลกายวิภาค ได้แก่ ความหนาของชั้น endometrium, ความหนาของชั้น myometrium และอัตราส่วนความหนาของชั้น endometrium ต่อชั้น myometrium (E : M ratio) โดยใช้วิธี One-way ANOVA และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test

4. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลดัชนีการงอกขยาย PCNA ในเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านม โดยใช้วิธี One-way ANOVA และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test

5. ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับการงอกขยายทางจุลกายวิภาคในเนื้อเยื่อมดลูก ได้แก่ glandular proliferation, glandular secretion และglandular dilatation โดยใช้วิธี Kraskal-Wallis H test และ Mann-Whitney U test

6. ทำการวิเคราะห์ระดับของการงอกขยายทางจุลกายวิภาคในเต้านม ได้แก่ alveolar secretion, lobular proliferation, ductal dilatation และfibrostromal proliferation โดยใช้วิธี Kraskal-Wallis H test และ Mann-Whitney U test



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4 ผลการศึกษา

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลจากตัวอย่างเนื้อเยื่อมดลูก และเต้านมของแม่วบ้านจำนวนทั้งสิ้น 18 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม จำนวน 6 ตัวอย่าง กลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลองที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL จำนวน 6 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA จำนวน 6 ตัวอย่าง

1. ลักษณะของมดลูกทางมหกายวิภาค

ลักษณะมดลูกของแม่วในกลุ่มที่ 1 พบว่ามีขนาดค่อนข้างเล็ก ยึดตรง และมีหน้าตัดของปีกมดลูกเป็นทอทรงกลม หรือค่อนข้างแบนรี ซึ่งแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับมดลูกของแม่วในกลุ่มที่ 2 และ 3 ที่พบว่ามดลูกมีขนาดที่ใหญ่กว่า โดยบางตัวอย่างสามารถสังเกตเห็นการโค้งงอเล็กน้อย หรือการเจริญเป็นกระเปาะของมดลูก(ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลอายุ น้ำหนัก ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และรูปร่างปีกมดลูก

รหัสประจำตัว	อายุ(เดือน)	สารที่ได้รับ	น้ำหนักตัว(กิโลกรัม)		ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (นก./มล.)		รูปร่างปีกมดลูก
			ก่อนได้รับสารทดลอง	วันที่เก็บตัวอย่าง	ก่อนได้รับสารทดลอง	วันที่เก็บตัวอย่าง	
002	8	NSS	2.55	2.85	0.3	0.1	เป็นเส้นตรง
008	7	NSS	ND	2.75	0.1	0.3	เป็นเส้นตรง
011	14	NSS	ND	4.3	1.2	0.3	เป็นเส้นตรง
014	6	NSS	2.9	3.25	0.2	0.6	เป็นเส้นตรง
016	5	NSS	1.95	2.05	0.2	0.2	เป็นเส้นตรง
018	5	NSS	2	2.1	0.2	0.2	เป็นเส้นตรง
003	8	PROL	2.95	3.15	0.5	0.1	เป็นเส้นตรง
004	7	PROL	2.85	3.05	0.2	0.1	เป็นเส้นตรง
005	8	PROL	2.5	2.8	0.5	0.1	เป็นเส้นตรง
010	7	PROL	2.35	2.05	0.3	<0.1	เป็นเส้นตรง
013	5	PROL	2	2	0.4	0.1	โค้งงอเล็กน้อย
020	10	PROL	2.85	2.85	0.5	0.1	เป็นเส้นตรง
001	12	MPA	2.85	3.1	0.3	0.1	เป็นเส้นตรง
007	12	MPA	ND	2.35	0.2	0.1	เป็นกระเปาะ
009	6	MPA	2.3	2.15	0.4	<0.1	เป็นเส้นตรง
012	6	MPA	2	2.1	0.2	0.1	โค้งงอเล็กน้อย
017	5	MPA	1.6	1.65	1	0.1	เป็นเส้นตรง
019	5	MPA	2.2	2.4	0.2	0.1	เป็นเส้นตรง

ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของน้ำหนักและความยาวมดลูก แสดงในตารางที่ 2 พบว่าน้ำหนักมดลูกของแมวในกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่า เท่ากับ 0.62 ± 0.39 , 1.87 ± 1.01 และ 2.06 ± 1.11 ก. ตามลำดับ ขณะที่น้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ของแมวในกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่า เท่ากับ 0.02 ± 0.01 , 0.07 ± 0.03 และ 0.09 ± 0.05 ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักมดลูกและน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ของกุ่มทดลองมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ 2 และ 3 ($p > 0.05$) ขณะที่ความยาวของมดลูกในกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 4.22 ± 1.55 , 4.58 ± 0.44 และ 4.88 ± 1.02 ซม. ตามลำดับ แต่ไม่พบว่ามี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสามกลุ่ม ($p > 0.05$)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบน้ำหนักมดลูก น้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ และความยาวของมดลูก

กลุ่มที่	จำนวน (ตัว)	น้ำหนักของมดลูก (ก.)	น้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์	ความยาวของมดลูก (ซม.)
1	6	0.62 ± 0.39^a	0.02 ± 0.01^a	4.22 ± 1.55^a
2	6	1.87 ± 1.01^b	0.07 ± 0.03^b	4.58 ± 0.44^a
3	6	2.06 ± 1.11^b	0.09 ± 0.05^b	4.88 ± 1.02^a

^{a,b} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในคอลัมน์เดียวกัน

สำหรับความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโพรงมดลูก (inner diameter) ในกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 1.04 ± 0.45 , 1.47 ± 0.21 และ 1.56 ± 0.42 มม. ตามลำดับ ซึ่งพบว่าในกลุ่มที่ 3 มีความกว้างของโพรงมดลูกมากที่สุด (ตารางที่ 3) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม ($p > 0.05$) ขณะที่เส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูก (outer diameter) ในกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 2.41 ± 0.47 , 4.26 ± 1.08 และ 4.33 ± 0.87 มม. ตามลำดับ ซึ่งความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูกของกลุ่มที่ 2 และ 3 มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มที่ 2 และ 3 ($p > 0.05$)

ตารางที่3 เปรียบเทียบเส้นผ่านศูนย์กลางของโพรงมดลูก และเส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูก

กลุ่มทดลอง	จำนวน (ตัว)	เส้นผ่านศูนย์กลางของโพรงมดลูก (มม.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูก (มม.)
1	6	1.04±0.45 ^a	2.41±0.47 ^a
2	6	1.47±0.21 ^a	4.26±1.08 ^b
3	6	1.56±0.42 ^a	4.33±0.87 ^b

^{a,b} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในคอลัมน์เดียวกัน

2. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของมดลูกและเต้านม

ความหนาของชั้น endometrium ในกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 0.41 ± 0.10 , 0.73 ± 0.23 และ 0.73 ± 0.11 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งความหนาของชั้น endometrium ในกลุ่มทดลองที่ 2 และ 3 มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลอง ($p > 0.05$) ส่วนเนื้อเยื่อชั้น myometrium พบว่ากลุ่มที่ 2 มีความหนาของชั้น myometrium มากกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ 3 ($p > 0.05$) สำหรับอัตราส่วนระหว่างความหนาของชั้น endometrium และ myometrium (E:M ratio) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสามกลุ่ม ($p > 0.05$)

ตารางที่4 เปรียบเทียบความหนาของชั้น Endometrium และ Myometrium

กลุ่มทดลอง	จำนวน (ตัว)	ความหนาของEndometrium(E) (มม.)	ความหนาของ Myometrium(M) (มม.)	E:M ratio
1	6	0.41 ± 0.10 ^a	0.50 ± 0.21 ^a	0.90 ± 0.31 ^a
2	6	0.73 ± 0.23 ^b	0.80 ± 0.26 ^{ab}	0.93 ± 0.26 ^a
3	6	0.73 ± 0.11 ^b	0.99 ± 0.35 ^b	0.81 ± 0.26 ^a

^{a,b} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในคอลัมน์เดียวกัน

ผลการศึกษาเนื้อเยื่อในชั้น endometrium ของแมวในกลุ่มควบคุมพบว่ามีการจัดเรียงตัวของต่อมในชั้น endometrium เพียง 1-2 ชั้น โดยต่อมที่พบบนนั้นจะวางตัวชิดส่วนปลายของชั้น endometrium ด้านที่ติดกับท่อปีกมดลูก (lumen) และพบว่าต่อมดังกล่าวเกือบทั้งหมดอยู่ในระยะที่ inactive ซึ่งสังเกตได้จากการที่ต่อมมีขนาดเล็ก รูปทรงกลม หรือยาวรี และไม่พบการสะสมของสิ่งคัดหลั่ง โดยมีเซลล์ส่วนใหญ่เป็นชนิด cuboidal epithelium นิวเคลียสติดสีจาง รูปร่างยาว

ขนาดใหญ่เกือบเต็มเซลล์ ขณะที่รูปร่างของเซลล์เยื่อผนังปีกมดลูกเป็นชนิด simple squamous epithelium หรือ simple cuboidal epithelium (รูปที่ 1A)

สำหรับเนื้อเยื่อมดลูกของแมวในกลุ่มที่ 2 ซึ่งมีความหนาของชั้น endometrium เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) พบการเจริญทั้งในด้านขนาดและจำนวนต่อมในชั้น endometrium อย่างเด่นชัด โดยมีการเรียงตัวของต่อมประมาณ 5-6 ชั้นกระจายเกือบเต็มพื้นที่ของชั้น endometrium ซึ่งต่อมมีขนาดและรูปร่างแตกต่างกัน ภายในพบการสะสมของสิ่งคัดหลั่งได้บ้าง เซลล์ของต่อมมีลักษณะ high columnar epithelium นิวเคลียสรูปร่างกลม ติดสีน้ำเงินเข้ม และพบ vacuoles ในไซโตพลาสซึมได้อย่างชัดเจน ขณะที่เซลล์เยื่อผนังปีกมดลูกพบรูปร่างเป็น simple cuboidal epithelium หรือ simple columnar epithelium (รูปที่ 1B)

ส่วนเนื้อเยื่อมดลูกของแมวในกลุ่มที่ 3 ซึ่งมีความหนาของชั้น endometrium ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) มีการเจริญงอกขยายของต่อมในชั้น endometrium คล้ายคลึงกับกลุ่มที่ 2 โดยส่วนใหญ่พบการงอกขยายของต่อมกระจายทั่วชั้น endometrium เรียงกันประมาณ 5-6 ชั้น ต่อมมีขนาดและรูปร่างที่หลากหลาย ภายในต่อมเริ่มสังเกตเห็นการสะสมของสิ่งคัดหลั่งได้บ้าง ขณะที่รูปร่างของเซลล์เยื่อผนังปีกมดลูกเป็นชนิด high columnar epithelium ที่มีนิวเคลียสรูปร่างกลม ติดสีน้ำเงินเข้ม และพบ vacuoles จำนวนมากในไซโตพลาสซึม ขณะที่เซลล์เยื่อผนังปีกมดลูกมีรูปร่าง simple cuboidal epithelium หรือ simple columnar epithelium (รูปที่ 1C)

ตารางที่ 5 แสดงจำนวนตัวอย่างมดลูกที่เกิดการเปลี่ยนแปลงในทางจุลพยาธิวิทยา

กลุ่มทดลอง	จำนวนตัว (ตัว)	Glandular proliferation				Glandular secretion				Glandular dilatation			
		N	S	M	Ma	N	S	M	Ma	N	S	M	Ma
NSS	6	4	2	0	0	6	0	0	0	1	4	1	0
PROL	6	0	0	1	5	0	4	2	0	0	0	1	5
MPA	6	0	1	1	4	0	5	0	1	0	0	1	5

N : none, S: slight, M: moderate, Ma : mark

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเต้านม แสดงตามตารางที่ 6 พบว่าตัวอย่างจากแมวในกลุ่มควบคุมมีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเต้านมน้อยมาก(รูปที่ 2A) ขณะที่ในกลุ่มที่ 2 และ 3 พบลักษณะทางมหกายวิภาคของเนื้อเยื่อเต้านมมีสีชมพูอมแดง เป็นแผ่นขนาดเล็ก ลักษณะบาง

วางตัวอยู่ชิดกับชั้นผิวหนังใต้บริเวณฐานหัวนม ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาส่วนใหญ่มีการเจริญของเซลล์เยื่อบุท่อน้ำนมอย่างเด่นชัด โดยมีการงอกขยายและเรียงตัวซ้อนทับกัน 2-3 ชั้น และพบลักษณะเด่นของการเจริญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (fibrous) ของเต้านม (รูปที่ 2B และ 2C) นอกจากนี้พบว่าตัวอย่างเนื้อเยื่อเต้านมของแมวในกลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 จำนวนกลุ่มละ 1 ตัวอย่าง มีการเจริญของเนื้อเยื่อน้ำนม (lobules) ร่วมกับการสร้างสิ่งค้ำหลังภายในต่อมน้ำนมอย่างชัดเจน (รูปที่ 2D)

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนตัวอย่างเนื้อเยื่อเต้านมที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา

กลุ่มทดลอง	จำนวนตัวอย่าง (ตัว)	Alveolar secretion				Lobular proliferation				Ductal dilatation				Fibrostromal proliferation			
		N	S	M	Ma	N	S	M	Ma	N	S	M	Ma	N	S	M	Ma
		NSS	6	6	0	0	0	5	1	0	0	5	0	0	1	5	0
PROL	6	5	0	0	1	2	3	0	1	2	0	1	3	2	2	0	2
MPA	6	5	0	0	1	1	4	0	1	0	0	2	4	1	1	3	1

N : none, S: slight, M: moderate, Ma : mark

การศึกษาค่าเฉลี่ยคะแนนการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อมดลูก แสดงในตารางที่ 7 พบว่าค่าเฉลี่ยการเจริญงอกขยายของต่อม (glandular proliferation) การเพิ่มขึ้นของสิ่งค้ำหลังจากต่อม (glandular secretion) และการขยายขนาดของต่อม (glandular dilatation) ของกลุ่มที่ 2 และ 3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองที่ได้รับโปรเจสทินแต่ละชนิด

ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ยคะแนนการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อมดลูก

กลุ่มทดลอง	จำนวนตัว (ตัว)	Glandular proliferation	Glandular secretion	Glandular dilatation
1	6	0.33±0.52 ^a	0.00 ^a	1.00±0.63 ^a
2	6	2.83±0.41 ^b	1.33±0.52 ^b	2.83±0.41 ^b
3	6	2.50±0.84 ^b	1.33±0.82 ^b	2.83±0.41 ^b

^{a,b} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในคอลัมน์เดียวกัน

การศึกษาค่าเฉลี่ยคะแนนการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านม แสดงใน ตารางที่ 8 พบว่าค่าเฉลี่ยการงอกขยายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเต้านม (fibrostromal proliferation) และการสร้างสิ่งคัดหลั่งจากถุงผลิตน้ำนม (alveolar secretion) ของกลุ่มที่ 2 และ 3 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ของค่าเฉลี่ยการเจริญของท่อน้ำนม (ductal dilatation) และการเจริญของต่อมน้ำนม (lobular proliferation) ของกลุ่มที่ 3 กับกลุ่มควบคุม ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยคะแนนการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านม

กลุ่มทดลอง	จำนวนตัว (ตัว)	Alveolar secretion	Lobular proliferation	Ductal dilatation	Fibrostromal proliferation
NSS	6	0.00 ^a	0.17±0.41 ^a	0.50±1.22 ^a	0.50±1.22 ^a
PROL	6	0.50±1.22 ^a	1.00±1.09 ^{ab}	1.83±1.47 ^{ab}	1.33±1.37 ^a
MPA	6	0.50±1.22 ^a	1.17±0.98 ^b	2.66±0.52 ^b	1.03±1.67 ^a

^{a,b} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในคอลัมน์เดียวกัน

3. การวัดค่าดัชนีงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูก และเต้านม

ค่าเฉลี่ยดัชนี PCNA ของเซลล์ Luminal epithelium ของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 8.77±8.89, 25.93±16.50 และ 47.60±30.95 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) โดยกลุ่มที่ 3 มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่ค่าเฉลี่ยดัชนี PCNA ของเซลล์ glandular epithelium ของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 31.10±29.56, 29.97±31.31 และ 36.57±22.55 ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทั้งสามกลุ่ม ($p > 0.05$) ค่าเฉลี่ยดัชนี PCNA ของเซลล์เยื่อต่อมน้ำนมของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 1.27±3.10, 22.00±19.49 และ 22.83±17.68 ตามลำดับ ซึ่งพบการเพิ่มขึ้นของดัชนี PCNA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มที่ 2 และ 3 ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มทดลองที่ได้รับโปรเจสติน ($p > 0.05$)

ตารางที่ 9 ค่าดัชนี PCNA ของเนื้อเยื่อเต้านมและมดลูก

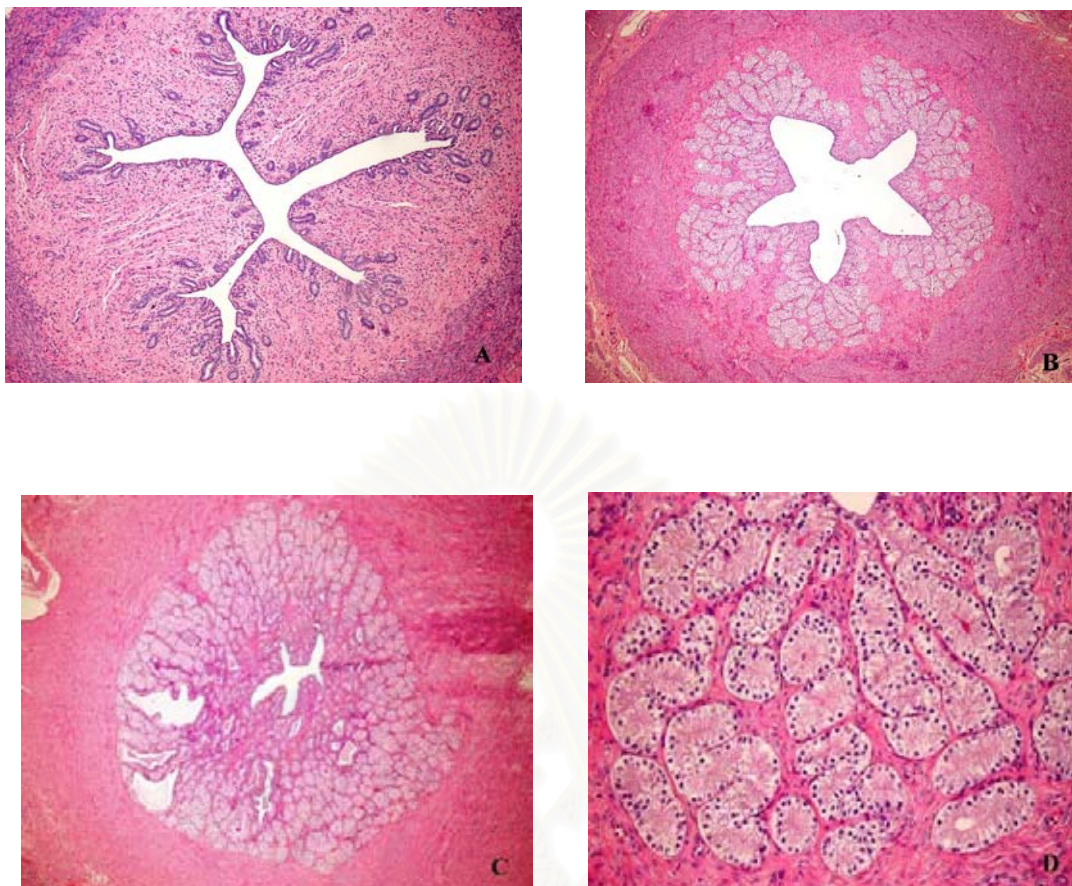
กลุ่มทดลอง	จำนวน (ตัว)	ดัชนี PCNA ของมดลูก (ร้อยละ)		ดัชนี PCNA ของเต้านม (ร้อยละ)
		Luminal epithelium	Glandular epithelium	
1	6	8.77±8.89 ^a	31.10±29.56 ^a	1.27±3.10 ^a
2	6	25.93±16.50 ^{ab}	29.97±31.31 ^a	22.00±19.49 ^b
3	6	47.60±30.95 ^b	36.57±22.55 ^a	22.83±17.68 ^b

^{a,b} แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในคอลัมน์เดียวกัน

4. การศึกษาระดับกล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านของเนื้อเยื่อมดลูก และเต้านม

การศึกษาในเนื้อเยื่อมดลูกของแมวกุ่มควบคุมพบเซลล์เยื่อบุต่อมในชั้น endometrium มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ มีรูปร่างที่หลากหลายและวางตัวอยู่กึ่งกลางเซลล์ ภายในนิวเคลียสสังเกตเห็นพบ electron dense ของนิวคลีโอลัสได้ชัดเจน ขณะที่ในไซโตพลาสซึมพบไมโทคอนเดรียกระจายตัวอยู่ไม่มาก และไม่พบการสะสมของ secretory granules นอกจากนี้สังเกตเห็น microvilli จำนวนน้อยเรียงอยู่ห่างกันบริเวณขอบปลายเซลล์ (รูปที่ 4A) ส่วนเซลล์เยื่อบุของแมวกุ่มที่ได้รับโปรเจกตินชนิด PROL และ MPA นั้นมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของเซลล์ที่คล้ายคลึงกัน โดยส่วนใหญ่พบนิวเคลียสรูปร่างยาวรีวางตัวอยู่ใกล้ basement membrane ภายในพบ electron dense ของเฮเทอโรโครมาตินอยู่รอบชิดขอบด้านในเยื่อหุ้มนิวเคลียส แต่ไม่พบนิวคลีโอลัส ขณะที่ในไซโตพลาสซึมพบ secretory granules ลักษณะโครงสร้างรูปร่างกลม หรือรี มี electron density ต่ำ รวมตัวกันอยู่ในตำแหน่งเหนือนิวเคลียส (supranuclear region) ขณะที่พบว่า microvilli มีการเรียงตัวชิดกันโดยมีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัด (รูปที่ 4-B,C)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่1A ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมดลูกในแมวบ้านกลุ่มควบคุม ไม่พบการเจริญของต่อมในชั้นเยื่อบุมดลูก โดยมีการเรียงตัวซ้อนกันของต่อมขนาดเล็กเพียง 1-2 ชั้น ชิดส่วนปลายด้านโพรงมดลูก

(สีย้อม Hematoxylin & Eosin, กำลังขยาย 40 เท่า)

รูปที่1B มดลูกของแมวกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL พบการเจริญงอกขยายของต่อมเกือบทั่วพื้นที่ของชั้นเยื่อบุมดลูก โดยสังเกตเห็นการเรียงตัวซ้อนกันของต่อม 3-4 ชั้น

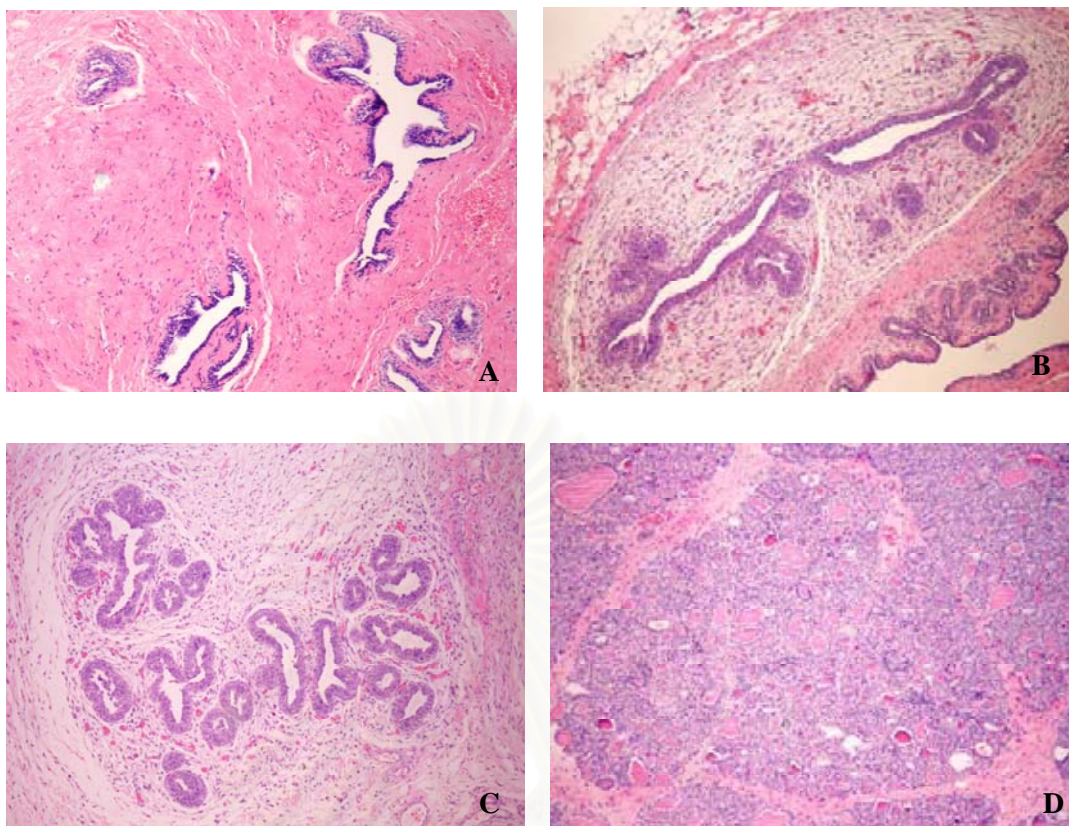
(สีย้อม Hematoxylin & Eosin, กำลังขยาย 40 เท่า)

รูปที่1C มดลูกของแมวในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA มีการเจริญงอกขยายของต่อมในชั้นเยื่อบุมดลูกอย่างเด่นชัด โดยพบการสะสมของสิ่งคัดหลั่งได้ในบางบริเวณ

(สีย้อม Hematoxylin & Eosin, กำลังขยาย 40 เท่า)

รูปที่1D ลักษณะต่อมในชั้นเยื่อบุมดลูกจากแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL พบว่ามีรูปร่างและขนาดที่หลากหลาย วางตัวเบียดชิดกัน โดยมีเซลล์เยื่อบุเป็นชนิด simple cuboid แต่มักไม่พบการสะสมของสิ่งคัดหลั่งอยู่ภายใน

(สีย้อม Hematoxylin & Eosin, กำลังขยาย 200 เท่า)



รูปที่2A ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านมในแมวกุ่มควบคุม พบเซลล์เยื่อบุ
ท่อน้ำนมส่วนใหญ่มีการจัดเรียงตัวซ้อนทับกันประมาณ 1-2 ชั้น และไม่พบการเจริญ
งอกขยายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันรอบท่อน้ำนม

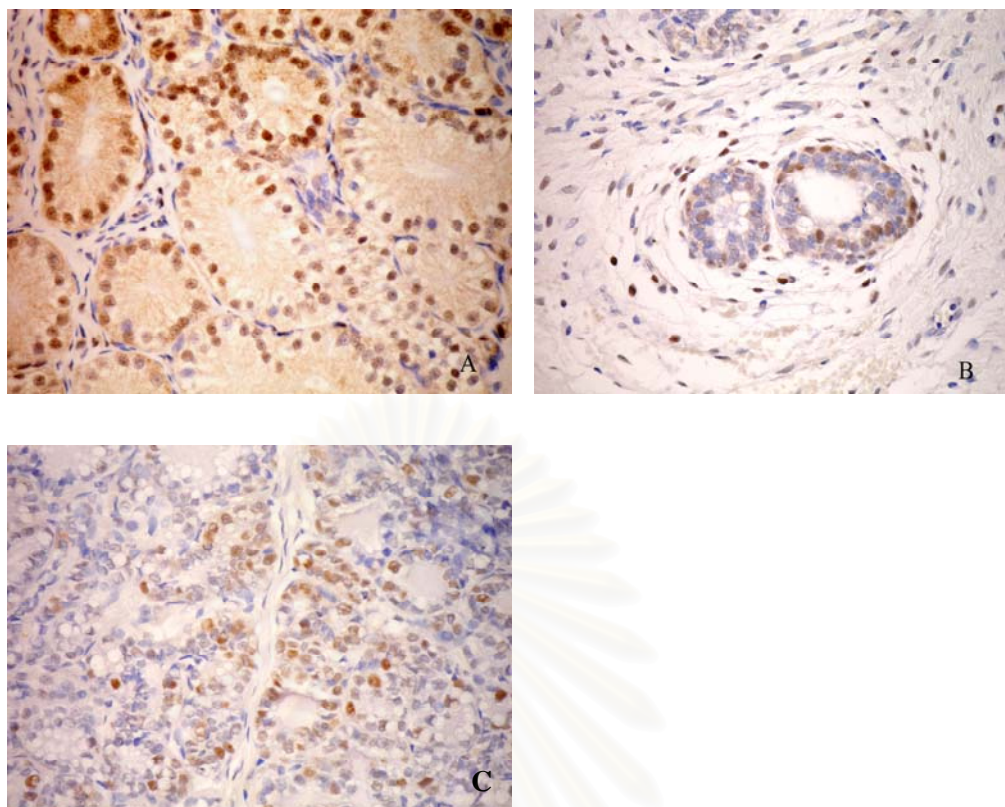
(สีย้อม Hematoxylin & Eosin, กำลังขยาย 100 เท่า)

รูปที่2B ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านมในแมวที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL
พบการงอกขยายในลักษณะ fibroepithelial hyperplasia โดยมีการเจริญของเซลล์
เยื่อบุท่อน้ำนมซ้อนทับกัน 2-3 ชั้น และพบการเจริญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในบริเวณรอบ
ท่อน้ำนมอย่างเด่นชัด (สีย้อม Hematoxylin & Eosin, กำลังขยาย 100 เท่า)

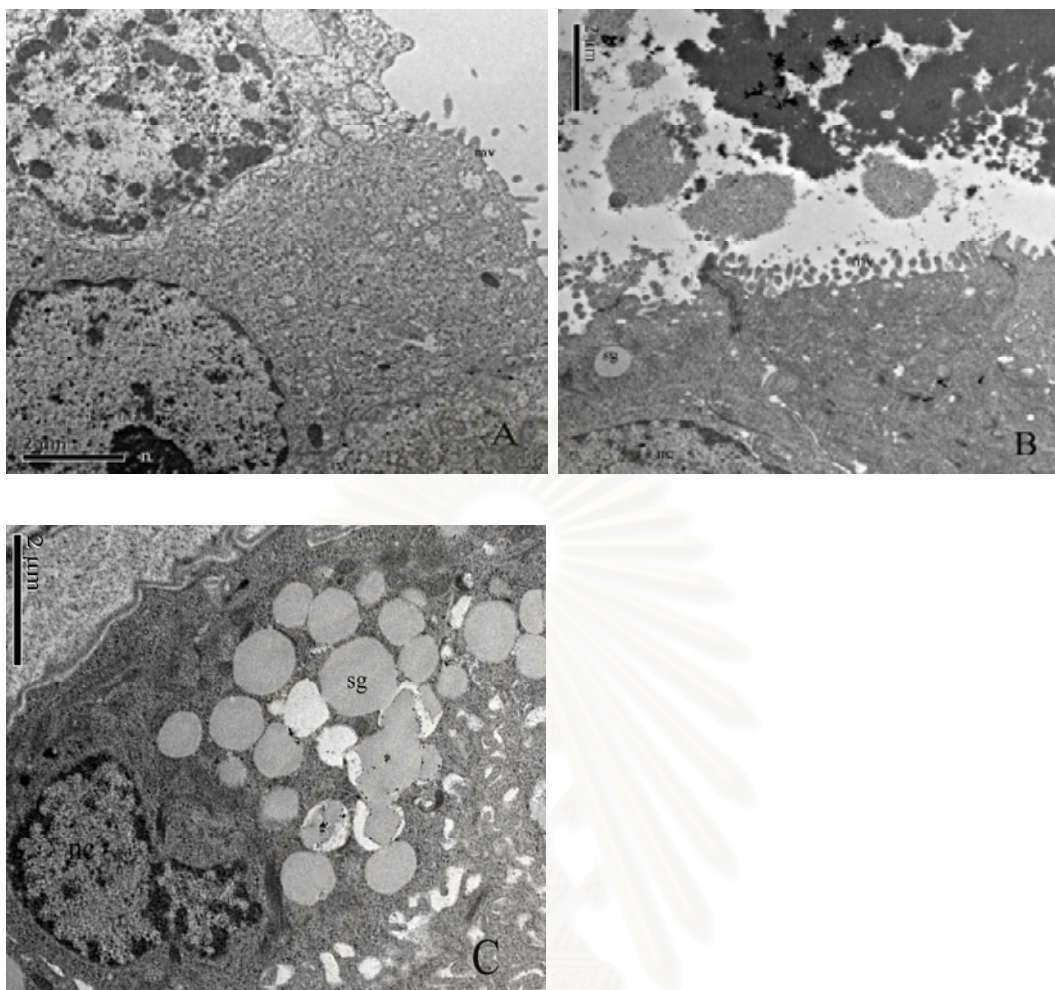
รูปที่2C ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านมในแมวที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA
พบการงอกขยายในลักษณะ fibroepithelial hyperplasia ซึ่งมีการเจริญของเซลล์เยื่อบุ
ท่อน้ำนมซ้อนทับกัน 2-3 ชั้น และพบการเจริญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในบริเวณรอบ
ท่อน้ำนม (สีย้อม Hematoxylin & Eosin, กำลังขยาย 100 เท่า)

รูปที่2D ลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อเต้านมที่เกิดการงอกขยายในแบบ lobular
hyperplasia จากแมวที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA โดยสังเกตพบการเจริญงอกขยาย
ของต่อมน้ำนม ซึ่งมีการสะสมของสิ่งคัดหลั่งอยู่ภายใน

(สีย้อม Hematoxylin & Eosin, กำลังขยาย 100 เท่า)



รูปที่ 3 เซลล์เยื่อบุต่อมในชั้น endometrium ของแมวบ้านในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PRL และ MPA ซึ่งเซลล์ที่ให้ผลบวกต่อ PCNA จะติดสีน้ำตาลอ่อนหรือเข้ม ในนิวเคลียส (A) ขณะที่เนื้อเยื่อเต้านมพบการแสดงออกของ PCNA ทั้งในเซลล์เยื่อบุท่อน้ำนม และเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (B) รวมถึงเซลล์เยื่อบุต่อมน้ำนม (C) (เทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมี วิธี ABC ย้อมทับ Meyer's Hematoxylin, กำลังขยาย 400 เท่า)



รูปที่ 4 ภาพจากกล้องอิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านแสดงลักษณะองค์ประกอบของเซลล์เยื่อบุต่อมในชั้น endometrium โดยในกลุ่มควบคุม พบ microvilli (mv) จำนวนน้อย เรียงตัวห่างกัน โดยไม่พบ secretory granule (sg) ภายในเซลล์ (A) ขณะที่ในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL พบจำนวนของ microvilli มีมากขึ้น และเริ่มมี secretory granule เข้าไปชิดบริเวณส่วนปลายของเซลล์ (B) เซลล์ที่ทำการศึกษาจากตัวอย่างที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA ส่วนใหญ่มักมีการสะสมของ secretory granule อยู่ใกล้กับส่วนบนของนิวเคลียส (nc) (C)

บทที่ 5

สรุปผลงานวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในแมวบ้านภายหลังได้รับโปรเจสตินชนิด PROL และ MPA ในครั้งนี้เบื้องต้นพบว่า แมวในกลุ่มควบคุมมีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดไม่เปลี่ยนแปลงมากนักภายหลังได้รับ NSS (ตารางที่ 1) โดยพบระดับของฮอร์โมนอยู่ในช่วง 0.1-0.6 นก./มล. ซึ่งเป็นระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนปกติที่พบในแมวซึ่งอยู่ในระยะ interestrus (Verhage et al., 1976) ขณะที่แมวกลุ่มที่ได้รับโปรเจสตินชนิด MPA หรือ PROL ส่วนใหญ่มีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับระยะก่อนได้รับโปรเจสติน โดยตัวอย่างทั้งหมดมีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเท่ากับ หรือต่ำกว่า 0.1 นก./มล. อันเป็นระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ต่ำสุดซึ่งสามารถแสดงผลได้จากการตรวจวัดด้วยเทคนิค CMIA (Architect® Progesterone, Abbott Laboratories, USA) ทั้งนี้การที่ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดไม่เพิ่มสูงขึ้นภายหลังจากที่แมวได้รับโปรเจสตินซึ่งเป็นสารอนุพันธ์ที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับฮอร์โมนชนิดดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าเทคนิคการตรวจวัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยวิธี CMIA (Architect® Progesterone, Abbott Laboratories, USA) มีความจำเพาะต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยไม่แปรผันเพิ่มขึ้นตามโปรเจสตินที่ให้เข้าสู่ร่างกาย สอดคล้องกับข้อมูลจากเอกสารประกอบการใช้ผลิตภัณฑ์ (Abbott Laboratories, USA) ซึ่งพบการเกิด cross reaction ต่ออนุพันธ์ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน หรือฮอร์โมนในกลุ่มสเตียรอยด์ชนิดอื่นเพียงร้อยละ 0.1 - 4.6 และไม่พบการเกิด cross reaction ต่อโปรเจสตินชนิด MPA เมื่อทำการตรวจตรวจวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดด้วยวิธี CMIA (Architect® Progesterone, Abbott Laboratories, USA)

นอกจากการระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือด ซึ่งถือเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของโปรเจสตินต่อเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมแล้ว ผลการศึกษาทั้งในส่วนของคุณลักษณะทางมหกายวิภาค จุลพยาธิวิทยา การเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์ และค่าดัชนี PCNA มีประเด็นที่สำคัญซึ่งนำไปสู่การอภิปรายผลและสรุปสมมุติฐานของการศึกษาที่ตั้งไว้ดังต่อไปนี้

1. ลักษณะของมดลูก และเต้านมทางมหกายวิภาค

พบว่าปีกมดลูกของแมวบ้านในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสตินชนิด PROL และ MPA มีขนาดใหญ่กว่าปีกมดลูกของแมวบ้านในกลุ่มควบคุม แต่จากการสังเกตลักษณะโดยทั่วไปมักไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัด ขณะที่การศึกษาเชิงปริมาณโดยวิธีการชั่งน้ำหนักมดลูกแสดงให้เห็นว่ามดลูกของแมวบ้านในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสติน มีน้ำหนักมวล และน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์เพิ่มขึ้น

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) โดยมดลูกของแมวในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA มีน้ำหนักมวล และน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์มากที่สุด อย่างไรก็ตามแม้จากผลการศึกษาก็จะชี้ให้เห็นแนวโน้มที่สัมพันธ์กันของน้ำหนักมวล และน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ ขณะที่ปัจจุบันยังคงไม่พบข้อมูลใดที่อ้างถึงน้ำหนักมดลูก หรือน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์ในแมวปกติ และแมวที่พบรอยโรค แต่จากการศึกษาของ Crile และ Quiring (1940) พบว่าอวัยวะบางอย่างของแมวบ้าน เช่น สมอง ต่อมไทรอยด์ หัวใจ และตับ มีน้ำหนักมวลอวัยวะที่เพิ่มขึ้นแปรผันตามน้ำหนักตัวของสัตว์ แสดงให้เห็นว่าในการพิจารณาการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักอวัยวะโดยอาศัยข้อมูลจากสัดส่วนน้ำหนักมวลอวัยวะต่อน้ำหนักตัวของสัตว์ในรูปของน้ำหนักสัมพัทธ์น่าจะมีความเหมาะสมมากกว่าการเปรียบเทียบโดยพิจารณาน้ำหนักมวลเพียงอย่างเดียว ซึ่งมีโอกาสเกิดความคลาดเคลื่อนในการวิเคราะห์ผลข้อมูลในกรณีที่สัตว์มีน้ำหนักตัวแตกต่างกัน

ขณะที่การวัดความยาวของมดลูกนั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่มตัวอย่างทั้งสามกลุ่ม ($p > 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Chatdarong และคณะ (2005) ที่พบว่ามดลูกของแมวบ้านที่อยู่ในระยะเป็นสัด ระยะหลังคลอด มดลูกของแมวที่เกิดพยาธิสภาพ และมดลูกของแมวที่มีประวัติการใช้โปรเจสทินชนิด MPA มีความยาวไม่แตกต่างกัน ดังนั้นแม้ผลการศึกษาก็ได้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างมดลูกจากแมวบ้านกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA มีความยาวของปีกมดลูกมากกว่ากลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และกลุ่มควบคุม (4.88 ± 1.02 , 4.58 ± 0.44 และ 4.22 ± 1.55 ซม.ตามลำดับ) แต่เกณฑ์ดังกล่าวอาจไม่สัมพันธ์หรือเหมาะสมเพียงพอต่อการบ่งชี้ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับมดลูกในทางมหกายวิภาคได้ดีเท่ากับการชั่งน้ำหนักมวล และการเปรียบเทียบน้ำหนักมดลูกสัมพัทธ์

การศึกษานาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโพรงมดลูกพบว่าทั้งสามกลุ่มมีความกว้างของโพรงมดลูกที่ใกล้เคียงกันโดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่เมื่อวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูกกลับพบว่าแมวบ้านในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินมีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางปีกมดลูกมากกว่ากลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่แสดงให้เห็นถึงความหนาที่เพิ่มขึ้นของเนื้อเยื่อมดลูกในแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA ซึ่งการหนาตัวที่พบอาจเกิดจากการเจริญงอกขยายของชั้น endometrium หรือชั้นกล้ามเนื้อของปีกมดลูก ด้วยเหตุนี้การนำตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ลักษณะทางจุลกายวิภาคจึงมีความสำคัญอันจะสามารถแสดงรายละเอียดได้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

ด้านการสังเกตลักษณะภายนอกของเต้านมในช่วงระยะเวลา 15 วันภายหลังจากได้รับโปรเจสทินนั้นไม่พบว่ามีตัวอย่างในกลุ่มใดที่เกิดการเปลี่ยนแปลงของเต้านมในทางมหกายวิภาคอย่างสังเกตเห็นได้ชัด ต่างจากรายงานของ Loretta และคณะ (2005) ที่พบการขยายใหญ่ของเต้านมทางมหกายวิภาคในแมวบ้านจำนวน 2 ตัว ในช่วงระยะเวลา 3 และ 15 วัน ตามลำดับ

ภายหลังจากได้รับโปรเจสทินชนิด MPA ในขนาด 12 มก./กก.เพียงครั้งเดียว อย่างไรก็ตามมีข้อสังเกตว่าการเจริญงอกขยายของเนื้อเยื่อเต้านมแบบ fibroepithelial hyperplasia ที่พบในการศึกษาครั้งดังกล่าว เกิดขึ้นหลังจากที่แมวได้รับโปรเจสทินในช่วงที่กำลังแสดงอาการเป็นสัด ซึ่งเป็นระยะที่เนื้อเยื่อเต้านมได้รับได้อิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนมาก่อน (estrogen primed) ทั้งนี้ฮอร์โมนเอสโตรเจนมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นและควบคุมการสังเคราะห์ตัวรับจำเพาะของโปรเจสทินในเซลล์เป้าหมาย (Clarke and Sutherland, 1990) ดังนั้นเมื่อแมวได้รับโปรเจสทินในช่วงระยะเวลาดังกล่าวจึงส่งผลให้เนื้อเยื่อเต้านมมีความไวต่อการตอบสนองและเกิดการเจริญงอกขยายของเต้านมอย่างรวดเร็วมากกว่าปกติ (Loretti et al., 2005) ส่วนการศึกษาในครั้งนี้ที่ได้ทำการให้โปรเจสทินชนิด MPA แก่แมวในขนาด 50 มก./ตัว (ประมาณ 17-31 มก./กก.) ซึ่งสูงกว่าการศึกษาที่ผ่านมา แต่เป็นการให้โปรเจสทินในช่วงที่แมวอยู่ในระยะ interestrus หรือ anestrus ซึ่งฮอร์โมนเอสโตรเจนและฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในร่างกายของสัตว์อยู่ในระดับพื้นฐาน (basal level) สาเหตุดังกล่าวน่าจะเป็นเหตุผลสำคัญที่ทำให้ไม่พบการเจริญงอกขยายของเนื้อเยื่อเต้านมในทางมหกายวิภาคในช่วงระหว่างเวลาที่ทำการศึกษา ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าช่วงระยะเวลาที่เริ่มพบการขยายขนาดทางมหกายวิภาคของเต้านมในแมวบ้านหลังจากได้รับโปรเจสทินนั้นอาจมีความแตกต่างกันไป โดยขึ้นอยู่กับปัจจัยร่วมที่สำคัญประการอื่นนอกเหนือไปจากชนิดของโปรเจสทินที่สัตว์ได้รับ อันได้แก่ ช่วงระยะเวลาการเป็นสัดของแมว ความไวรับต่อโปรเจสทินของสัตว์แต่ละตัว รวมถึงขนาดของโปรเจสทินที่ใช้ (Loletti et al., 2005)

โดยสรุปแม้ผลการศึกษานี้ไม่พบความแตกต่างที่ชัดเจนของการเปลี่ยนแปลงทางมหกายวิภาคของมดลูก และเต้านมระหว่างแมวบ้านในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA แต่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมแล้วสังเกตได้ว่ามดลูกของแมวที่ได้รับโปรเจสทินมีน้ำหนักรวม น้ำหนักมวลสัมผัส และเส้นผ่านศูนย์กลางของปีกมดลูกที่เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด ด้วยเหตุนี้จึงอาจนำข้อมูลที่ได้ไปพิจารณาประกอบเพื่อเป็นพื้นฐานสำหรับการศึกษาเพิ่มเติมถึงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของมดลูกในช่วงก่อนการผ่าตัดเก็บตัวอย่าง โดยอาศัยเทคนิคการตรวจทางรังสีวิทยา หรือการตรวจด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasound) ทั้งนี้เชื่อว่าผลที่ได้จะช่วยบ่งชี้การขยายขนาดของมดลูกที่เกิดขึ้นในร่างกายสัตว์ระหว่างที่ได้รับโปรเจสทินได้เป็นอย่างดี ซึ่งจะประโยชน์ต่อกระบวนการวินิจฉัยการงอกขยายอย่างผิดปกติของมดลูกในระยะเริ่มต้นทางคลินิก รวมทั้งจะเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับสัตวแพทย์ในการใช้เป็นเกณฑ์เพื่อพิจารณาถึงความเสี่ยงในการให้โปรเจสทินซ้ำแก่แมวในกรณีที่ต้องการควบคุมวงจรการเป็นสัดอย่างต่อเนื่อง

2. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของมดลูกและเต้านม

การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคพบการเจริญของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA อย่างเด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเนื้อเยื่อมดลูกมีการเจริญงอกขยายของชั้น endometrium ในลักษณะ complex endometrial hyperplasia (without atypia) ซึ่งมีรูปแบบจำเพาะที่สำคัญ ได้แก่ การเจริญของต่อมภายในชั้นเยื่อมดลูกจำนวนมาก เรียงตัวแน่น ทำให้พบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (stroma) ที่คั่นอยู่ระหว่างต่อมได้น้อย รวมทั้งต่อมมักมีรูปร่างที่บิดพับ หรือโค้งงอ (รูปที่ 1D) ซึ่งพบได้มากกว่ากรณีการเจริญงอกขยายแบบ simple endometrial hyperplasia (without atypia) ขณะที่เซลล์เยื่อบุส่วนใหญ่เป็นชนิด columnar epithelium ที่มีนิวเคลียสรูปร่างรี ขอบผิวเรียบ (Mazur, 2005) นอกจากนี้แม้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความหนาในชั้นกล้ามเนื้อเยื่อเยื่อมดลูกของแมวในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL แต่จากผลการศึกษาสังเกตเห็นได้ว่าชั้นกล้ามเนื้อเยื่อเยื่อมดลูกของแมวที่ได้รับโปรเจสทินแต่ละชนิดมีแนวโน้มของความหนาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ไม่พบความแตกต่างของอัตราส่วนระหว่างความหนาของชั้น endometrium ต่อชั้นกล้ามเนื้อเยื่อมดลูกในทั้งสามกลุ่มตัวอย่าง

เนื่องจากการเจริญของมดลูกในลักษณะ endometrial hyperplasia ของแมวบ้านสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งจากการกระตุ้นโดยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนที่สร้างขึ้นจากรังไข่ หรือเป็นผลจากการได้รับโปรเจสทิน (Munson et al., 2006) ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงอิทธิพลของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนที่สร้างขึ้นจากรังไข่ การศึกษาครั้งนี้จึงพยายามควบคุมปัจจัยที่เป็นตัวแปรดังกล่าวโดยกำหนดการทดลองให้แมวได้รับโปรเจสทินเฉพาะเมื่ออยู่ในระยะ interestrus หรือ anestrus เท่านั้น ซึ่งการบ่งชี้วงจรการเป็นสัดในแมวบ้านอาศัยข้อมูลจากการสังเกตพฤติกรรม การตรวจลักษณะเซลล์เยื่อบุช่องคลอด และการตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในกระแสเลือด ทั้งก่อนและหลังได้รับโปรเจสทิน ทั้งนี้เมื่อประกอบกับการศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาและการให้คะแนนรอยโรคตามระดับของการงอกขยาย ผลที่ได้จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าโปรเจสทินชนิด PROL สามารถกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อมดลูกในแมวบ้านได้ไม่ต่างจากโปรเจสทินชนิด MPA และแม้ว่าปัจจุบันจะยังไม่พบรายงานที่กล่าวถึงกลไกการออกฤทธิ์ของโปรเจสทินในการเหนี่ยวนำให้เกิดการงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกในแมวบ้านที่ชัดเจน แต่จากการศึกษาการออกฤทธิ์ของโปรเจสทินในสัตว์ทดลองและการงอกขยายของเนื้อเยื่อเต้านมในแมวบ้านได้ให้ข้อมูลอันเป็นประโยชน์ซึ่งสามารถนำมาใช้ในการอธิบายลักษณะการงอกขยายที่พบในเนื้อเยื่อมดลูกได้กล่าวคือ มีผลการศึกษาจำนวนไม่น้อยที่แสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของโปรเจสทินในเนื้อเยื่อมดลูกนั้นเป็นกลไกที่ต้องอาศัยตัวรับจำเพาะภายในเซลล์เป้าหมาย โดยการศึกษาในหนูทดลองที่ได้รับสาร antiprogesterin ชนิด RU486 ซึ่งมีความสามารถในการแย่งจับ

(competitive agonist) กับตัวรับจำเพาะของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน พบว่าสารดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน(stroma) ของมดลูกซึ่งเป็นกระบวนการที่ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนได้ (Clarke and Sutherland,1990) กรณีดังกล่าวสอดคล้องและเป็นข้อมูลที่สามารรถนำมาอธิบายรายงานของGorlinger และคณะ(2002) รวมทั้ง Vitásek และ Dendisová (2006) ที่พบว่าการงอกขยายของเต้านมแบบ fibroepithelial hyperplasia ในแมวซึ่งเป็นรูปแบบการเจริญของเนื้อเยื่อเต้านมที่มีส่วนสัมพันธ์กับการแสดงออกของตัวรับจำเพาะของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสามารถทำการรักษาได้โดยใช้ aglépristone

ทั้งนี้พบว่าเมื่อเกิดการเข้าจับกันระหว่างตัวรับจำเพาะและโปรเจสทินจะเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์ growth hormone ขึ้นภายในเซลล์เป้าหมาย (Mol et al.,1995) ซึ่งนอกจากgrowth hormone ที่สร้างขึ้นจะส่งผลต่อการงอกขยายของเซลล์ได้โดยตรงแล้ว ยังพบว่าฮอร์โมนชนิดนี้มีส่วนสัมพันธ์ต่อการแสดงออกของ insulin-like growth factor I (IGF-I) อันเป็น growth factor ที่มีบทบาทต่อการควบคุมการเจริญของเซลล์ ทั้งนี้เชื่อว่าการกระตุ้นการเจริญงอกขยายต่อเนื้อเยื่อเป้าหมายของ growth hormone และIGF-I นั้นเป็นไปในรูปแบบ autocrine/paracrine action (Van Gardenren et al., 1997)

ข้อมูลข้างต้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Misirlioglu และคณะ (2006) ที่พบการแสดงออกของตัวรับจำเพาะของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเซลล์เยื่อบุต่อมในชั้น endometrium ของแมวบ้านที่เกิดการงอกขยายของมดลูกแบบ cystic endometrial hyperplasia รวมทั้งการศึกษาของ De Las Mulas และคณะ (2000) ที่พบการแสดงออกของตัวรับดังกล่าวในเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเซลล์กล้ามเนื้อของมดลูก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Srisuwatanasagul และคณะ (2005) ที่พบการแสดงออกของตัวรับจำเพาะของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเซลล์เยื่อบุต่อมในชั้น endometrium เซลล์กล้ามเนื้อของเนื้อมดลูก และเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันในสุนัขที่มีภาวะมดลูกอักเสบเป็นหนอง ดังนั้นจากรายงานที่พบและผลการศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิวิทยาของเนื้อเยื่อมดลูกในแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA ในครั้งนี้ ต่างมีส่วนสัมพันธ์อันเป็นข้อมูลที่สนับสนุนและแสดงให้เห็นว่าการออกฤทธิ์ของโปรเจสทินในการเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกนั้น น่าจะเกิดขึ้นโดยอาศัยกลไกการทำงานผ่านตัวรับจำเพาะในการกระตุ้นการสังเคราะห์ปัจจัยสำคัญต่อการงอกขยายของเซลล์ อันได้แก่ growth hormone และ IGF-1 ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญงอกขยายของเซลล์เป้าหมายในลักษณะ autocrine/ paracrine action

สำหรับเต้านมนั้นแม้ลักษณะทางมหกายวิภาคไม่พบการขยายขนาดในทั้งสามกลุ่มตัวอย่าง แต่มีข้อสังเกตว่าในการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อเต้านมของแมวบ้านในกลุ่มควบคุม การบ่งชี้แยกแยะเนื้อเยื่อเต้านม เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเนื้อเยื่อไขมันในจุดที่ทำการเก็บตัวอย่างทำได้ยาก

เมื่อเทียบกับกลุ่มทดลองที่ได้รับโปรเจสทิน ทั้งนี้ส่วนหนึ่งเป็นเพราะเนื้อเยื่อเต้านมของแมวในกลุ่มควบคุมไม่อยู่ในระยะที่ได้รับอิทธิพลจากฮอร์โมนที่สร้างขึ้นจากรังไข่ รวมทั้งกลุ่มตัวอย่างของแมวที่นำมาศึกษามีอายุน้อย และไม่เคยผ่านการตั้งท้องหรือมีลูกมาก่อน จึงอาจยังไม่มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเต้านมมากนัก กรณีดังกล่าวผู้วิจัยได้เลือกเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อจากบริเวณที่อยู่ใกล้ฐานหัวนมมากที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อผ่านกระบวนการทางเนื้อเยื่อวิทยาและตรวจลักษณะทางจุลกายวิภาคแล้วพบว่า มีเพียง 1 ใน 6 ตัวอย่างที่พบโครงสร้างของเนื้อเยื่อเต้านมที่ชัดเจนและสามารถนำไปศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคต่อไปได้ ส่วนแมวในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และโปรเจสทินชนิด MPA ทั้งหมดพบว่าสามารถสังเกตเห็นเนื้อเยื่อเต้านมได้ง่ายเมื่อมองผ่านผิวหนังภายนอกหลังจากการโกนขนก่อนเริ่มทำการเก็บตัวอย่าง

การศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคของเต้านมในแมวบ้านกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และโปรเจสทินชนิด MPA พบว่าส่วนใหญ่มีการงอกขยายของเนื้อเยื่อเต้านมในรูปแบบ fibroepithelial hyperplasia ขณะที่พบการการงอกขยายในรูปแบบ lobular hyperplasia ได้ในบางตัวอย่าง (รูปที่ 2D) ซึ่งจากรายงานที่ผ่านมาเผยให้เห็นว่ากลไกการออกฤทธิ์ของโปรเจสทินที่เหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญของเนื้อเยื่อเต้านมในแมวบ้านเกิดขึ้นโดยอาศัยการทำงานร่วมกับตัวรับจำเพาะของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในเซลล์เป้าหมาย ทั้งนี้ De Las Mulas และคณะ (2000) พบว่าในแมวบ้านที่มีการเจริญของเต้านมในแบบ fibroepithelial hyperplasia จะมีการแสดงออกของตัวรับจำเพาะของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในเซลล์เยื่อบุท่อน้ำนม ต่อมน้ำนม และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (stromal cell) ซึ่งเมื่อโปรเจสทินเข้าจับกับตัวรับจำเพาะในเซลล์เป้าหมายจะเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์ growth hormone โดยกระตุ้นการแสดงออกของต่อจิ้นที่ควบคุมการสร้างฮอร์โมนดังกล่าว (Lantinga-van Leeuwen et al., 2000) สอดคล้องกับการศึกษาของ Ordás และคณะ (2004) ที่ตรวจพบการแสดงออกร่วมกันของตัวรับจำเพาะของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน และ growth hormone ในเซลล์เนื้อเยื่อเต้านมของแมวบ้านที่เกิดการงอกขยายแบบ fibroepithelial hyperplasia ทั้งนี้ growth hormone ที่สร้างขึ้นนั้นอาจกระตุ้นการเจริญของเซลล์เป้าหมายโดยตรง หรือเหนี่ยวนำให้มีการสังเคราะห์ IGF-1 ขึ้น ซึ่งการที่พบว่า growth factor ชนิดดังกล่าวมักมีการแสดงออกในเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพันของเนื้อเยื่อเต้านมที่มีการงอกขยายแบบ fibroepithelial hyperplasia (Ordás et al., 2004) อาจเป็นข้อบ่งชี้ที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่ยืนยันให้เห็นถึงรูปแบบการกระตุ้นการเจริญของเนื้อเยื่อเต้านมโดย growth hormone และ IGF-1

เมื่อกลไกการออกฤทธิ์ของโปรเจสทินในเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมมีรูปแบบดังที่ได้อภิปรายไว้ข้างต้น รวมถึงข้อมูลจากการศึกษาในครั้งนี้ที่เผยให้เห็นว่าโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA มีการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการเหนี่ยวนำให้เกิดการงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในแมวบ้านได้คล้ายกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Selman และคณะ (1995) ที่ไม่พบ

ความแตกต่างของการเปลี่ยนแปลงของต่อมหมวกไต ต่อมใต้สมอง และเนื้อเยื่อเต้านมในสุนัขที่ได้รับโปรเจสตินชนิด PROL เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับโปรเจสตินชนิด MPA ดังนั้นพยาธิสภาพของมดลูกและเต้านมในแมวบ้านภายหลังจากการได้รับโปรเจสตินชนิด MPA ซึ่งพบได้บ่อยกว่าโปรเจสตินชนิด PROL จึงอาจมีปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องประการอื่นซึ่งควรต้องนำมาพิจารณาร่วม ทั้งนี้พบข้อมูลสำคัญทางเภสัชจลศาสตร์ของยาที่บ่งชี้ให้เห็นว่าโปรเจสตินชนิด MPA สามารถออกฤทธิ์ในร่างกายในแมวบ้านได้นานถึง 6 เดือนเมื่อบริหารยาโดยการฉีดเข้าสู่กล้ามเนื้อ (Loretti et al., 2005) สอดคล้องกับการศึกษาในมนุษย์ที่พบว่าภายหลังจากบริหารยาเข้าสู่กล้ามเนื้อโปรเจสตินชนิด MPA จะคงอยู่ในกระแสเลือดได้นานถึง 7-9 เดือน (Pfizer Canada Inc., 2006) ในขณะที่พบว่าโปรเจสตินชนิด PROL มีช่วงระยะเวลาการออกฤทธิ์ในร่างกายของมนุษย์และสัตว์นานประมาณ 3-5 เดือนเท่านั้น (Intervet Australia Pty, 2006) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงระยะเวลาของการออกฤทธิ์ในร่างกายที่แตกต่างกันของโปรเจสตินทั้งสองชนิด ซึ่งเป็นไปได้ว่าระยะเวลาการออกฤทธิ์ในร่างกายของโปรเจสตินชนิด MPA ที่ยาวนานกว่าโปรเจสตินชนิด PROL อาจถือเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีส่วนสำคัญต่ออุบัติการณ์การเกิดพยาธิสภาพของมดลูกและเต้านมของแมวบ้าน เนื่องจากหากแมวได้รับโปรเจสตินในช่วงเวลาเดียวกันเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมของแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสตินชนิด MPA ย่อมจะได้รับผลในด้านการกระตุ้นการเจริญขยายที่ยาวนานกว่า ซึ่งประเด็นดังกล่าวมีสอดคล้องกับความเห็นของ Concannon และ Meyer-Wallen (1991) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าการคงอยู่ของฤทธิ์ของโปรเจสตินชนิด MPA ในร่างกายเป็นระยะเวลานานอาจเป็นสาเหตุที่นำไปสู่การเจริญขยายและเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมได้มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อพิจารณาถึงรูปแบบการใช้โปรเจสตินในทางคลินิกที่ปัจจุบันมีรูปแบบการให้โปรเจสตินซ้ำทุก 3 เดือนเพื่อควบคุมวงจรการเป็นสัดอย่างต่อเนื่องในแมวบ้าน

ที่ผ่านมา มีรายงานความผิดปกติของมดลูกและเต้านมในแมวบ้านที่มีประวัติได้รับโปรเจสตินชนิด MPA ทั้งจากการได้รับยาเพียงครั้งเดียว หรือเมื่อได้รับอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน โดยพบการเกิด uterine cystic hyperplasia ใน Siamese cat ภายหลังจากการได้รับโปรเจสตินชนิด MPA เพียงครั้งเดียวในช่วงที่อยู่ในระยะเป็นสัด โดยสังเกตพบความผิดปกติภายหลังจากการได้รับโปรเจสตินไปนาน 3.5 เดือน (Thornton and Kear, 1967) ส่วน Chatdarong และคณะ (2005) พบว่าการใช้ MPA ในแมวสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผนังมดลูกในลักษณะ cystic endometrial hyperplasia และเกิดการงอกขยายของ luminal และ glandular epithelium ได้ สอดคล้องกับ Kutzler และ Wood (2006) ที่รายงานว่าพบความผิดปกติของมดลูกได้บ่อยในสุนัขและแมวที่เคยได้รับโปรเจสตินชนิด MPA รวมถึงการศึกษาของ Loretti และคณะ (2004) ซึ่งพบการเจริญของเนื้อเยื่อเต้านมแบบ fibroepithelial hyperplasia ในแมวบ้านจำนวน 8 ตัว

ภายหลังจากได้รับโปรเจสตินชนิด MPA ขนาดตั้งแต่ 10-25 มก./กก.เพียงครั้งเดียว ขณะที่การศึกษาของ Hernandez และคณะ (1975) พบการเกิดเนื้องอกชนิด adenocarcinoma ในแมวบ้านเพศเมียจำนวน 2 จาก 5 ตัวที่ได้รับโปรเจสตินชนิด MPA ขนาด 25 มก./ตัว ทุกๆ 3 เดือน โดยตรวจพบรอยโรคภายหลังการได้รับโปรเจสตินไปนาน 2 และ 4 ปีตามลำดับ และถึงแม้ว่าในปัจจุบันยังไม่พบรายงานการเกิดพยาธิสภาพของมดลูกและเต้านมในแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสตินชนิด PROL มากนัก แต่ Vitasek และ Dendisova (2006) ก็มีรายงานถึงการเจริญของเต้านมในลักษณะ fibroepithelial hyperplasia ในแมวบ้าน อายุ 7 เดือนที่ได้รับโปรเจสตินชนิด PROL ในขนาดยา 75 มก./ตัว

โดยสรุปจากการศึกษาที่ผ่านมาและการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้โปรเจสตินชนิด PROL และ MPA ต่างก็มีผลในการกระตุ้นการเจริญออกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในแมวบ้านได้ แต่การออกฤทธิ์ในร่างกายที่ยาวนานของโปรเจสตินชนิด MPA ถือเป็นข้อแตกต่างที่สำคัญและอาจเป็นปัจจัยเสี่ยงสำหรับการเกิดพยาธิสภาพในอวัยวะดังกล่าวซึ่งควรจะต้องมีการศึกษาเปรียบเทียบเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนต่อไป นอกจากนี้การใช้โปรเจสตินอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานในแมวบ้านอาจเพิ่มโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดเนื้องอกร้ายแรงของเต้านม ดังนั้นจึงเป็นสิ่งสำคัญสำหรับสัตวแพทย์ที่จะต้องมีความรอบคอบ และระมัดระวังในการใช้โปรเจสตินทั้งสองชนิดในทางคลินิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งควรหลีกเลี่ยงการใช้โปรเจสตินเพื่อการควบคุมวงจรการเป็นสัดหรือคุมกำเนิดในแมวบ้านอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน

แม้ว่าการวิจัยครั้งนี้มิได้ทำการเก็บข้อมูลและศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ในแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสติน เนื่องจากพบข้อมูลการสังเกตลักษณะรังไข่ที่บ่งชี้ให้เห็นว่ารังไข่ของแมว (Chatdarong et al., 2005) และสุนัข (Koowatanatawam et al., 1986) ที่ได้รับโปรเจสตินส่วนใหญ่มักอยู่ในระยะ inactive อย่างไรก็ตามเนื่องจากผลการศึกษาในครั้งนี้อาจเกิดประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานทางคลินิกเพิ่มมากขึ้นหากได้มีการศึกษาและเก็บข้อมูลเพิ่มเติมถึงลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่พบบนรังไข่ระหว่างที่สัตว์ได้รับโปรเจสติน เพื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลในทางมหกายวิภาค และจุลกายวิภาคของมดลูก เต้านม และรังไข่ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างภายหลังจากการผ่าตัด ซึ่งคาดว่าผลที่ได้รับน่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อการตรวจวินิจฉัย พยากรณ์โรค และปรับปรุงแนวทางการรักษาโรคในแมวบ้านที่พบการเจริญออกขยายของเนื้อเยื่อเต้านมหรือมดลูก อันอาจมีสาเหตุจากการอิทธิพลของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สร้างขึ้นโดยรังไข่ หรือผลจากการกระตุ้นของโปรเจสตินต่อไป

3. การวัดค่าดัชนีงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูก และเต้านม

ผลการศึกษาพบว่าค่าดัชนี PCNA ของ luminal epithelium ในเนื้อเยื่อมดลูกของแมวที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA นั้นพบว่าค่าดัชนี PCNA สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาค่าดัชนี PCNA ใน glandular epithelium กลับไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างทั้งสามกลุ่มตัวอย่าง ($p > 0.05$) เช่นเดียวกับผลการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Chatdarong และคณะ (2005) ซึ่งไม่พบความแตกต่างของค่าดัชนี PCNA ระหว่างเนื้อเยื่อมดลูกของแมวที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA กับแมวที่อยู่ในระยะ inactive ของวงจรการเป็นสัด จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการเปรียบเทียบการงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกโดยอาศัยค่าดัชนี PCNA ไม่สามารถแสดงความแตกต่างระหว่างมดลูกของแมวบ้านในกลุ่มควบคุม กับกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินทั้งสองชนิดได้อย่างชัดเจน แม้จากลักษณะของเนื้อเยื่อลูกในแมวที่ได้รับโปรเจสทินจะมีการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาที่เด่นชัด ทั้งนี้อาจมีสาเหตุสำคัญเนื่องจากการเจริญของเนื้อเยื่อมดลูกในกลุ่มตัวอย่างที่ได้รับโปรเจสทินนั้นเป็นการงอกขยายในแบบ endometrial hyperplasia ซึ่งพบว่าเซลล์จะมีการแบ่งตัวกระจายอยู่ในหลายระยะของวัฏจักรเซลล์ (Mazur, 2005) ขณะที่ PCNA มักจะมีการแสดงออกได้ดีที่สุดเมื่อเซลล์อยู่ในระยะ G1 และ S phase (Preziosi et al., 1995) อย่างไรก็ตามเนื่องจาก PCNA เป็นโปรตีนซึ่งมีค่าครึ่งชีวิตยาวนาน รวมทั้งมีบทบาทต่อกระบวนการซ่อมแซม DNA ที่เกิดความเสียหาย (Lai et al., 2000) ดังนั้นบางครั้งจึงสามารถตรวจพบการแสดงออกได้แม้ในเซลล์ที่อยู่ในระยะพัก (Ohta and Ichimura, 2000) จากข้อเท็จจริงดังกล่าวจึงน่าจะเป็นสาเหตุสำคัญที่ส่งผลให้ค่าดัชนี PCNA ที่ได้จากการศึกษาในแต่ละกลุ่มตัวอย่างมีความแปรปรวนสูง และไม่สามารถบ่งชี้ความแตกต่างของการงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกระหว่างกลุ่มทดลองทั้งสามกลุ่มได้ชัดเจน

ขณะที่การศึกษาในเนื้อเยื่อเต้านมนั้นพบการเพิ่มขึ้นของดัชนี PCNA ในแมวกกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างของค่าดัชนี PCNA ระหว่างกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินทั้งสองกลุ่ม ($p > 0.05$) กรณีดังกล่าวแตกต่างจากการศึกษาของ Preziosi และคณะ (1995) ที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าดัชนี PCNA ของสุนัขและแมวในกลุ่มที่มีเต้านมปกติ และกลุ่มที่พบเนื้องอกเต้านมชนิดไม่ร้าย (benign tumor) อย่างไรก็ตามหากพิจารณาถึงจำนวนตัวอย่างเนื้อเยื่อเต้านมของแมวบ้านในกลุ่มควบคุมที่ใช้ในการศึกษาคั้งนี้ พบว่ามีเพียง 1 จาก 6 ตัวอย่างเท่านั้นที่มีลักษณะโครงสร้างของเนื้อเยื่อเต้านมอย่างสมบูรณ์และสามารถนำไปเพื่อศึกษาการแสดงออกของ PCNA ได้ ขณะที่ตัวอย่างเนื้อเยื่อที่เหลือส่วนใหญ่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และเนื้อเยื่อไขมัน ดังนั้นจำนวนตัวอย่างจึงอาจส่งผลต่อการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าดัชนี

PCNA ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งมีความแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมา นอกจากนี้ยังพบว่าค่าดัชนี PCNA ของตัวอย่างในกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA มีความแปรปรวนของค่อนข้างสูง (22.00 ± 19.49 และ 22.83 ± 17.68 ตามลำดับ) ทั้งนี้อาจอธิบายสิ่งที่พบได้ในลักษณะเช่นเดียวกับกรณีของเนื้อเยื่อมดลูกที่พบว่าการเจริญแบบ hyperplasia มักมีการกระจายตัวของเซลล์ในหลายระยะของวัฏจักรเซลล์ ทำให้ค่าดัชนีที่นับได้จากตัวอย่างในแต่ละกลุ่มมีค่าต่างกันออกไปมาก

โดยสรุปแม้ว่าดัชนี PCNA จะมีความน่าเชื่อถือและสามารถนำมาใช้เพื่อบ่งชี้ความรุนแรงและพยากรณ์โรคเนื้องอก และมะเร็งหลายชนิดทั้งในมนุษย์ สุนัข และแมวได้ (Preziosi et al., 1995) แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าค่าดัชนี PCNA ไม่ใช่เกณฑ์ที่มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้เพื่อพิจารณาการงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมในแมวบ้านภายหลังจากการให้โปรเจสทินในระยะเวลาสั้นๆ (15 วัน) ที่เกิดการเจริญในลักษณะ hyperplasia เนื่องจากรูปแบบของการงอกขยายในลักษณะดังกล่าวมีการกระจายของเซลล์อยู่ในหลายระยะของวัฏจักรเซลล์ ขณะที่การแสดงออกของ PCNA แม้จะสามารถพบได้สูงที่สุดในระยะ G1 และ S phase แต่ก็สามารถพบในเซลล์ที่อยู่ในระยะพัก รวมถึงเซลล์ที่มีความเสียหายของ DNA ดังนั้นหากมีการศึกษาต่อไปในอนาคตควรที่จะได้มีการทดลองนำ Proliferative marker ชนิดอื่นซึ่งมีคุณสมบัติในการแสดงออกได้ดีในหลายระยะของเซลล์ที่อยู่ในวัฏจักรเซลล์ยกเว้นเซลล์ที่อยู่ในระยะพัก เพื่อใช้ทำการศึกษาเปรียบเทียบดัชนีการงอกขยายเนื้อเยื่อที่มีการเจริญในลักษณะ hyperplasia ยกตัวอย่างเช่น Ki-67 ซึ่งพบว่าเป็น nuclear antigen อีกชนิดหนึ่ง (Cote and Taylor, 1997) ที่มีบทบาทต่อการเหนี่ยวนำการสลายออกของเยื่อหุ้มนิวเคลียสในกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ และสามารถพบการแสดงออกได้ดีในเกือบทุกระยะของวัฏจักรเซลล์ (G1-, S-, G2 และ M phase) แต่ไม่พบในเซลล์ที่อยู่ในระยะพัก (Löhr et al. 1997) ดังนั้นการศึกษาดัชนี Ki-67 เพื่อประเมินการงอกขยายของมดลูกและเต้านมที่มีการงอกขยายในลักษณะ hyperplasia จึงอาจเป็นแนวทางที่เหมาะสมในการแสดงให้เห็นถึงเซลล์ที่อยู่ในช่วง active ของระยะการแบ่งตัวได้ชัดเจนกว่าการใช้ดัชนี PCNA

4. ลักษณะทางจุลกายวิภาคของเนื้อเยื่อมดลูก และเต้านมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน

การศึกษาดังกล่าวพบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนของเยื่อบุต่อมในชั้น endometrium ของแมวบ้านกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL มีความคล้ายคลึงกับกลุ่มที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA ซึ่งเซลล์ที่พบมักมีนิวเคลียสรูปร่างรีและสังเกตเห็น electron dence ของ heterochromatin วางตัวอยู่ชิดขอบด้านในของเยื่อหุ้มนิวเคลียส ในไซโตพลาสซึมสังเกตเห็น golgi apparatus และ secretory granules อยู่ในบริเวณเหนือนิวเคลียสขึ้นไปด้านบน (supranuclear region) ขณะที่ส่วนปลายของเซลล์ (apical region) พบ microvilli เส้นไม่ยาวนักจำนวนมากเรียงชิดกันแน่น ทั้งนี้ในบางเซลล์สังเกตเห็นว่ามี secretory granules อยู่ใกล้บริเวณส่วนปลายของเซลล์ ซึ่งแสดงถึงการเตรียมพร้อมที่จะถูกหลั่งออกสู่ภายนอก (exocytosis) ลักษณะที่พบดังกล่าวแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดจากเซลล์เยื่อบุต่อมของแมวบ้านในกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ปรากฏโครงสร้างของ secretory granules และมักมี microvilli จำนวนน้อยเรียงตัวอยู่ห่างกัน

จากการศึกษาของ Segalen และคณะ (1982) พบว่าการเพิ่มจำนวนของ microvilli ในเซลล์เยื่อบุผนังมดลูกของกระต่ายในระยะ estrus เป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนเอสโตรเจน และจำนวนของ microvilli ที่พบจะเริ่มลดลงภายหลังจากการตกไข่และมีการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน นอกจากนี้ในการศึกษาดังกล่าวสังเกตเห็นว่าจำนวน microvilli ที่ลดลงสัมพันธ์กับเซลล์ที่อยู่ในระยะหลัง secretory granule สอดคล้องกับการศึกษาของ Van Cruchten และคณะ (2002) ซึ่งวิเคราะห์ว่าการเพิ่มจำนวนและความยาวของ microvilli ในเซลล์เยื่อบุผนังมดลูกของสุนัขที่อยู่ในระยะ estrus เป็นผลจากการเหนี่ยวนำของฮอร์โมนเอสโตรเจนผ่านตัวรับจำเพาะในเซลล์เป้าหมาย และ microvilli จะมีจำนวนและความยาวที่ลดลงเมื่อได้รับอิทธิพลของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ทั้งนี้เชื่อว่า microvilli มีหน้าที่สนับสนุนกระบวนการเมทาโบลิซึมของเซลล์ โดยช่วยในการดูดซึมและขนส่ง electrolytes เข้าสู่เซลล์ (Anderson et al., 1975) ส่วนการศึกษาของ Bareither และ Verhage (1980) ในเซลล์เยื่อบุต่อมในชั้น endometrium ของแมวพบข้อมูลซึ่งบ่งชี้ว่าเอสโตรเจนเป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทในการควบคุมการสร้าง secretory granules ภายในเซลล์เป้าหมาย ขณะที่ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีบทบาทที่สำคัญต่อกระบวนการขนส่ง secretory granules ออกสู่ภายนอกเซลล์ (exocytosis) ซึ่งเมื่อพิจารณาข้อมูลจากการศึกษาดังกล่าวข้างต้นพบว่ามีทั้งส่วนที่สนับสนุนและขัดแย้งกับผลการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งพบการเพิ่มจำนวนของ microvilli และ secretory granules ในเซลล์เยื่อบุต่อมของชั้น endometrium หลังจากที่ได้รับโปรเจสทิน จึงอาจสันนิษฐานได้ว่ากระบวนการสร้าง secretory granules และการเพิ่มขึ้นของ microvilli นั้นนอกจากจะเกิดจากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจนแล้วอาจจะสามารถเหนี่ยวนำได้จากฤทธิ์ของโปรเจสทิน หรืออาจเป็นกระบวนการที่

เกิดขึ้นจากการกระตุ้นโดยฤทธิ์ของโปรเจสทินร่วมกับฮอร์โมนเอสโตรเจนในระดับต่ำ ทั้งนี้พบว่าในช่วงวงรอบการเป็นสัดของระยะ interestrus แมวจะมีระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกระแสเลือดประมาณ 8-11 พิโคกรัม/ มล.(Verhage et al., 1976) อย่างไรก็ตามเนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้มิได้ทำการผ่าตัดนำรังไข่ซึ่งเป็นแหล่งสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนออกก่อนที่จะทำการให้โปรเจสทิน และมีได้วัดระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนในกระแสเลือดทั้งก่อนและหลังการศึกษาจึงยังไม่อาจให้ข้อสรุปที่ชัดเจนต่อสมมุติฐานดังกล่าวได้ ด้วยเหตุดังกล่าวจึงควรที่จะต้องมีการศึกษาเพื่อหาข้อเท็จจริงที่แน่ชัดต่อไป อย่างไรก็ตามการตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอด และการสังเกตพฤติกรรม การเป็นสัดเป็นข้อมูลสำคัญประการหนึ่งที่ยืนยันให้เห็นว่าขณะทำการทดลองครั้งนี้สัตว์มีระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนอยู่ในระดับพื้นฐานซึ่งไม่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์และมีผลกระทบต่อผลการศึกษา นอกจากนี้มีข้อสังเกตว่าในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของแมวที่ได้รับโปรเจสทินส่วนใหญ่มี secretory granules เพียงบางส่วนที่เคลื่อนเข้าชิดกับผนังเซลล์หรือถูกหลั่งออกสู่ภายนอกเซลล์ ลักษณะดังกล่าวมีความสอดคล้องและเป็นเหตุผลสำคัญต่อการอธิบายสิ่งที่พบทางจุลกายวิภาคของมดลูกจากการสังเกตผ่านกล้องจุลทรรศน์ชนิดแสงสว่างถึงเหตุที่พบการสะสมของสิ่งคัดหลั่งภายในต่อมได้น้อย ขณะที่การสังเกตเห็น secretory granule บางส่วนถูกหลั่งออกสู่ภายนอกเซลล์อาจเป็นสิ่งที่ช่วยยืนยันให้เห็นถึงฤทธิ์ของโปรเจสทินต่อการควบคุมกระบวนการ exocytosis ได้ในระดับหนึ่ง ทั้งนี้พบว่าการควบคุมการสร้างและหลั่ง secretory granule ในเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของผนังมดลูกในแมวเป็นสรีรวิทยาที่แตกต่างจากสุนัข ซึ่งอาศัยเพียงฮอร์โมนเอสโตรเจนชนิดเดียวในการควบคุมการสร้างและหลั่ง secretory granule (Bareither and Verhage ,1980)

สรุป แม้ที่ผ่านมามีการศึกษาถึงผลของการใช้โปรเจสทินชนิด PROL ในสุนัขและสัตว์ทดลอง ซึ่งบ่งชี้ว่าโปรเจสทินชนิดนี้มีประสิทธิภาพในการควบคุมวงจรการเป็นสัด และมีผลข้างเคียงต่อการกระตุ้นการเจริญออกซายและเหนี่ยวนำให้เกิดพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อในระบบสืบพันธุ์ที่น้อยกว่าการใช้โปรเจสทินชนิดอื่น อย่างไรก็ตามปัจจุบันพบว่าเริ่มมีข้อสังเกตทางคลินิกถึงอุบัติการณ์ความผิดปกติของอวัยวะในระบบสืบพันธุ์ของแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL ซึ่งยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นดังกล่าวมีสาเหตุจากฤทธิ์ของโปรเจสทินชนิดนี้โดยตรง หรือมีสาเหตุจากปัจจัยอื่นที่เกี่ยวเนื่อง ดังนั้นในการศึกษารุ่นนี้จึงได้พยายามที่จะนำเสนอข้อมูลในหลายด้านที่แสดงให้เห็นลักษณะของมดลูกและเต้านมในแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL เปรียบเทียบกับแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสทินชนิด MPA ซึ่งมักพบรายงานความผิดปกติของมดลูกและเต้านมในแมวที่มีประวัติได้รับโปรเจสทินชนิดนี้อยู่บ่อยครั้ง จากผลการศึกษาแม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างที่ชัดเจนของการเปลี่ยนแปลงหรือพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นบนเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมระหว่างแมวบ้านที่ได้รับโปรเจสทินชนิด PROL และ MPA แต่

จากข้อมูลที่ได้ในด้านต่างๆระหว่างการศึกษา ก็เพียงพอต่อการแสดงให้เห็นฤทธิ์ของโปรเจสทินชนิด PROL ที่สามารถทำให้เกิดการเจริญงอกขยายของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมได้คล้ายกับโปรเจสทินชนิด MPA ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มที่ไม่ได้รับโปรเจสทินอย่างเด่นชัด อย่างไรก็ตามแม้ว่าผลที่ได้จะบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านมที่ค่อนข้างชัดเจน แต่ภายใต้กรอบของการศึกษาครั้งนี้ยังไม่อาจยืนยันได้ว่าลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังกล่าวมีความสัมพันธ์ต่อการพัฒนาไปสู่พยาธิสภาพอย่างรุนแรงของเนื้อเยื่อมดลูกและเต้านม ทั้งนี้สิ่งที่เป็นไปได้อย่างหนึ่งคือระยะเวลาในการศึกษาภายหลังจากการให้โปรเจสทินทั้งสองชนิดนั้นเป็นระยะเวลาเพียง 15 วัน ซึ่งระยะเวลาดังกล่าวเป็นช่วงที่ยังไม่สามารถพบความแตกต่างด้านความเปลี่ยนแปลงที่นำไปสู่พยาธิสภาพของอวัยวะได้ รวมถึงจำนวนครั้งและความถี่ของการให้โปรเจสทินซึ่งอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ดังนั้นการศึกษาถึงผลของการใช้โปรเจสทินชนิด PROL ในแมวบ้านยังคงเป็นประเด็นที่มีความน่าสนใจซึ่งยังต้องการข้อมูลที่เป็นประโยชน์อยู่อีกมาก จึงควรที่จะมีการศึกษารายละเอียดในด้านต่างๆ ของการใช้โปรเจสทินชนิดนี้ในแมวบ้านเพิ่มมากขึ้น โดยผลการศึกษาในครั้งนี้และการศึกษาในด้านต่างๆที่จะเกิดขึ้นต่อไปในอนาคตอาจบ่งชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพหรือผลข้างเคียงที่พบจากการใช้โปรเจสทินชนิด PROL ได้อย่างชัดเจนมากยิ่งขึ้น ซึ่งท้ายที่สุดองค์ความรู้ที่ได้รับจะส่งผลให้เกิดประโยชน์อย่างสูงสำหรับสัตวแพทย์ผู้ปฏิบัติงานทางคลินิกในการพิจารณาเลือกแนวทางที่เหมาะสมสำหรับการควบคุมวงจรการเป็นสัด การคุมกำเนิด และการดูแลสุขภาพสำหรับแมวบ้านต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

- Amorim, F.V., Souza, H.J.M., Ferreira, A.M.R., and Fonseca, A.B.M. 2006. Clinical, cytological and histopathological evaluation of mammary masses in cats from Rio de Janeiro, Brazil. J. Feline Med. Surg. 8(6): 379-388.
- Anderson, W., Kang, Y.H., and DeSombre, R. 1975. Estrogen and antagonist-induced changes in endometrial topography of immature and cycling rats. J. Cell Biol. 64: 692-703.
- Bareither, M.L. and Verhage, H.G. 1980. Effect of estrogen and progesterone on secretory granule formation and release in the endometrium of the ovariectomized cat. Biol. Repro. 22: 635-643.
- Burke, T.J. 1977. Fertility control in the cat. Vet. Clin. North. Am. 7(4): 699-703.
- Chatdarong, K., Rungsipipat, A., Axner, E. and Linde-Forsberg, C. 2005. Hysterographic appearance and uterine histology at different stages of the reproductive cycle and after progestagen treatment in the domestic cat. Theriogenology. 64: 12-29.
- Clarke, C.L. and Sutherland, R.L. 1990. Progestin regulation of cellular proliferation. Endocr Rev. 11(2): 266-301.
- Cote, R.J. and Taylor, C.R. 1997. Prognostic markers in immunohistochemistry. In: Rose, N.R., De Macario, E.C., Fold, J.D., Lane, H.C., and Nakamura, R.M. (5th eds.), Manual of clinical laboratory immunology. 400-410. Washington DC: American society of microbiology press.
- Concannon, P.W. and Mayers-Wallen, V.N. 1991. Current and proposed methods for contraception and termination of pregnancy in dogs and cats. J. Am. Vet. Med. Assoc. 198: 1214-1224.
- Crile, G. and Quiring, D. P. 1940. A record of the body weight and certain organ and gland weights of 3690 animals. Ohio J. Science. 10L: 219-259.
- De Las Mulas, J.M., Millán, Y., Bautista, M. J., Perez, J. and Carrasco, L. 2000. Oeogen and progesterone receptors in feline fibroadenomatous change: an immunohistochemical study. Res. Vet. Sci. 68: 15-21.

- Evan, J.M., and Sutton, D.J. 1989. The use of hormones, especially progestagens, to control estrus in bitches. J. Reprod. Fertil. 39: 163-173.
- Görlinger, S., Kooistra, H.S., Van den Broek, A., and Okken, A.C. 2002. Treatment of fibroadenomatous hyperplasia in cats with aglépristone. J. Vet. Int. Med. 16(6): 710-713.
- Gruffydd-Jones, T.J. 2004. The reproductive system. In: Chandler, E.A., Gaskell, C.J. and Gaskell, R.M. (eds.), Feline medicine and therapeutics. 3rd ed. 345-347. Oxford: Blackwell Publishing.
- Hernandez, F.J., Fernandez, B.B., Chertack, M., and Gage, P.A. 1975. Feline mammary carcinoma and progestogens. Feline Pract. 5(5): 45-48.
- Howe, L.M. 2006. Surgical methods of contraception and sterilization. Theriogenology. 66: 500-509.
- Intervet Australia Pty Limited. 2006. Material safety data sheet. Australia. (Unpublished Manuscript)
- Jackson, E.K.M. 1984, Contraception in the dog and cat, British Vet. J. 140:132-137.
- Johnson, C.A. 1994. Female reproduction and disorders of the female reproductive tract. In: Sherding, R.G. (ed.), The cat diseases and clinical management. Vol.2. 2nd ed. 1872-1873. New York: Churchill Livingstone.
- Koowatanataworn, G., Polsuwan, C., Nualsri, A., Prachankhadee, D., Rattanaphani, R. and Pothiwong, W. 1986. Reproductive effects of medroxyprogesterone acetate in female dogs during 6-months of treatment. Thai. J. Vet. Med. 16: 33-48.
- Kutzler, M. and Wood, A. 2006. Non-surgical methods of contraception and sterilization. Theriogenology. 66: 514-525.
- Lacy, C.F. 2002. Medroxyprogesterone. In: Armstrong, L.L., Goldman, M.P., Lacy, C.F. and Lance, L.L. (eds.), Drug Information Hand Book. 848-849. Ohio : Lexi-Comp.

- Lai, M.D., Lee, L.R., Cheng, K.S., and Wing, L.Y.C. 2000. Expression of proliferating cell nuclear antigen in luminal epithelium during the growth and regression of rat uterus. J. Endocrin. 166: 87-93.
- Lantinga-van Leeuwen, I.S., van Garderen, E., Rutteman, R., and Mol, J.A. 2000. Cloning and cellular localization of the canine progesterone receptor: co-localization with growth hormone in the mammary gland. J. Steroi. Biol. Mol. Biol. 75: 219-228.
- Leonhart, S.A., and Edwards, D.P. 2002. Mechanism of action of progesterone antagonists: Minireview. Exp. Biol. Med. 277: 969-980.
- Loretti, A.P., Da Silva Ilha, M.R., Ordás, J. and De Las Mulas, J.M. 2005. Clinical, pathological and immunohistochemical study of feline mammary fibroepithelial hyperplasia following a single injection of depot medroxyprogesterone acetate. J. Feline Med. Surg. 7: 43-52.
- Löhr, C.V., Teifke, J.P., Failling, K. and Weiss, E. 1997. Characterization of the proliferation state in canine mammary tumors by the standardized AgNORs method with post fixation and immunohistology detection of Ki-67 and PCNA. Vet. Pathol. 34: 212-221.
- Mazur, M.T. 2005. Endometrial hyperplasia/adenocarcinoma: A conventional approach. Annals Diag. Pathol. 9: 174-181.
- Misirlioglu, D., Nak, D., Ozyigit, M.O., Akkoc, A., and Cangul, T. 2006. Steroid receptor expression and HER-2/neu (c-erbB-2) oncoprotein in the uterus of cats with cystic endometrial hyperplasia–pyometra complex. J.Vet. Med. A53: 225–229.
- Munson, L. 2006. Contraceptive in felids. Theriogenology. 66: 126-134.
- Mol, J.A., van Garderen, E., Selman, P.J., Wolfswinkel, J., Rijnberk, A., and Rutteman, G.R. 1995. Growth hormone mRNA in mammary gland tumours of dogs and cats. J. Clin. Invest. 95: 2028-2034.

- Ohta, Y. and Ichimura, K. 2000. Proliferation markers, proliferating cell nuclear antigen, Ki67, 5-Bromo-2'-deoxyuridine, and cyclin D1 in mouse olfactory epithelium. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 109: 1046-1048.
- Olson, P.N. and Johnston, S.D. 1993. New developments in small animal population control. J. Am. Vet. Med. Assoc. 202: 904-909.
- Ordás, J., Millán, Y., Espinosa de los Monteros, A., Reymundo, C., and De Las Mulas, J.M. 2004. Immunohistochemical expression of progesterone receptors, growth hormone and insulin growth factor-I in felinefibroadenomatous change. Res. Vet. Sci. 76: 227-233.
- Pfizer Canada Inc. 2006. Pharmacokinetics. In Depo-provera (medroxyprogesterone acetate) product monograph. Quebec, Canada.
- Pineda, M.H. 2003. Reproductive patterns of cats. In: Pineda, M.H. (ed.), McDonald's veterinary endocrinology and reproduction. 5th ed. 518-519. Iowa: Iowa state press.
- Preziosi, R., Sarli, G., Benazzi, C. and Macato, P.S. 1995. Detection of proliferating cell nuclear antigen(PCNA) in canine and feline mammary tumours. J.Comp.Path. 113: 301-313.
- Reimers, T.J. 2003. Intracellular action of steroid hormones. In: Pineda, M.H. (ed.), McDonald's veterinary endocrinology and reproduction. 5th ed. 8-10. Iowa: Iowa state press.
- Romagnoli, S. and Concannon, P.W. 2003. Clinical use of progestins in bitches and queens: A review. In: Recent Advances in Small Animal Reproduction. International Veterinary Information service, Ithaca NY (Distributor).
- Roth, T.L., Munson, L., Swanson, W.F., and Wildt, D.E. 1995. Histological characteristics of the uterine endometrium and corpus luteum during early embryogenesis and the relationship to embryonic mortality in the domestic cat. Biol.Reprod. 53: 1012-1021.

- Segalen, J., Lescoat, D., and Chambon, Y. 1982. Ultrastructural aspects of uterine secretion during the establishment of pregnancy in the rabbit: role of the egg. J. Anat. 135(2): 281-289.
- Selman, P.J., Van Garderen, E., Mol, J.A. and Van Den Ingh, T.S.G.A.M. 1995. Comparison of the histological change in the dog after treatment with progestin medroxyprogesterone acetate and proligestone. Vet. Q.17:128-133.
- Selman, P.J., Wolfswinkel, J., and Mol, J.A. 1996. Binding specificity of medroxyprogesterone acetate and proligestone for the progesterone receptor and glucocorticoid receptor in the dog. Steroids. 61: 133-137.
- Spitz, I.M. and Robbin, A. 1998. Mechanism of action and clinical effects of antiprogestins on the non-pregnant uterus. Human Reprod. Update. 4(5): 584-593.
- Srisuwatanasagul, K., Sukjumlong, S., Sirivaidyapong, S., and Pianchop, S. 2005. An immunohistochemical study of the progesterone receptor (PR) expression in pyometra cases and normal uteri at the time of dioestrus in the bitch. Thai J. Vet. Med. 35(2): 57-64.
- Thornton, D.A., and Kear, M. 1967. Uterine cystic hyperplasia in Siamese cat following treatment with medroxyprogesterone acetate. Vet. Rec. 80: 380-381.
- Van Cruchten, S., Van den Broeck., Simoens, P., and Lauwers, H. 2002. Scanning electron microscopic changes of the canine uterine luminal surface during oestrus and late metoestrus. Reprod. Dom. Anim. 37: 121-126.
- Van Garderen, E., De Wit, M., Voorhout, W.F., Rutteman, G.R., Mol, J.A., Nederbragt, H., and Misdorp, W. 1997. Expression of growth hormone in canine mammary tissue and mammary tumors. Am. J. Pathol. 150:1037-1047.
- Van Os, J.L., 1982. Oestrus control in the bitch with proligestone: A clinical study. Ph.D. Thesis, University of Utrecht.
- Verhage, H.G., Beamer, N.B., and Brenner, R.M. 1976. Plasma levels of estradiol and progesterone in the cat during polyestrus, pregnancy and pseudopregnancy. Biol. Reprod. 14: 579-585.

Verhage, H.G., Boomsma, R.A., Murray, M.k., and Jaffe, R.C. 1983. Subcellular compartmentalization of the Progesterone receptor in cat uteri following the acute administration of progesterone. Biol. Reprod. 28: 545-550.

Vitásek, R., and Dendisová, H. 2006. Treatment of feline mammary fibroepithelial hyperplasia following a single injection of proligestone. ACTA Vet. BRNO. 75: 295-297.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก.

อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

1. เวชภัณฑ์

- 1.1 Medrpxyprogesterone acetate (Depo-M[®], Vesco Phamaceutical LTD., Thailand) จำนวน 4 ขวด
- 1.2 Proligestone (Covinan, Intervet[®]) จำนวน 1 ขวด

2. วัสดุทางวิทยาศาสตร์

- 2.1 บล็อกพาราฟิน จำนวน 32 บล็อก
- 2.2 สไลด์พร้อมกระจกย้อมสี H&E จำนวน 32 สไลด์
- 2.3 สไลด์กระจก จำนวน 2 ก่อง
- 2.4 กระจกปิดสไลด์ จำนวน 2 ก่อง
- 2.5 ภาชนะใส่สไลด์สำหรับย้อม
- 2.6 ภาชนะแก้วสำหรับย้อมสี
- 2.7 ถังมือยาง จำนวน 1 ก่อง

3. สารเคมี

- 3.1 น้ำยาฟอรัมาลิน 1 ลิตร
- 3.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ 450 มิลลิลิตร
- 3.3 Bovine serum albumin ขนาด 10 กรัม
- 3.4 ABC kit จำนวน 1 ชุด
- 3.5 Biotinylated rabbit anti-mouse IgG antibody 1 มิลลิลิตร
- 3.6 สาร DAB 10 กรัม จำนวน 1 ขวด
- 3.7 Monoclonal mouse anti-PCNA antibody 1 มิลลิลิตร
- 3.8 Methanol 1 ขวด
- 3.9 Absolute ethanol 1 ขวด ปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร
- 3.10 Xylene 1 ขวด 1,000 มิลลิลิตร
- 3.11 Tris (hydroxymethyl) aminomethane 500 กรัม

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นาย กฤษณรงค์ วงศ์บ้านดู่ เกิดวันที่ 16 พฤศจิกายน พ.ศ. 2522 ที่อำเภอเมือง จังหวัดมหาสารคาม สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2546 และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท ในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2547



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย